

**Entwicklung zahnmedizinischer Materialien:
Auf der Mikroarchitektur von Haifischzähnen basierende
Fluorapatit/Polymer-Dentalkomposite und
Mattierungsdispersionen für die Vermessung von Zähnen**

Dissertation

zur Erlangung des akademischen Grades eines
Doktors der Naturwissenschaften
Dr. rer. nat.

vorgelegt von

Joachim Enax

geboren in Bottrop

Institut für Anorganische Chemie
der
Universität Duisburg-Essen

2014

Die vorliegende Arbeit wurde im Zeitraum von Oktober 2010 bis November 2014 im Arbeitskreis von Herrn Prof. Dr. Matthias Epple am Institut für Anorganische Chemie der Universität Duisburg-Essen angefertigt.

Tag der Disputation: 04. Dezember 2014

Gutachter: Prof. Dr. Matthias Epple
 Prof. Dr. Mathias Ulbricht

Vorsitzende: PD Dr. Ursula Telgheder

Inhaltsverzeichnis

1. EINLEITUNG	7
2. THEORETISCHE GRUNDLAGEN	10
2.1 Zähne	10
2.1.1 Struktur und Zusammensetzung von humanen Zähnen	10
2.1.2 Struktur und Zusammensetzung von Haifischzähnen	12
2.1.3 Struktur und Zusammensetzung von Krokodilzähnen	14
2.2 Calciumphosphate	15
2.3 Wichtige dentale Materialien	17
2.4 Biomimetik	17
2.5 Anwendungsbezogene Aspekte von dentalen Materialien	18
3. ANALYSEMETHODEN	19
3.1 Rasterelektronenmikroskopie (REM)	19
3.2 Energiedispersive Röntgenspektroskopie (EDX)	19
3.3 Röntgenpulverdiffraktometrie (XRD)	20
3.4 Thermogravimetrie (TG)	21
3.5 Elementaranalyse	21
3.6 Atomabsorptionsspektrometrie (AAS)	22
3.7 Ultraviolett (UV) Spektroskopie	22
3.8 Infrarot (IR) Spektroskopie	23

3.9 Vickers-Mikrohärteprüfung	24
3.10 Nanoindentation	25
4. EXPERIMENTELLER TEIL	27
4.1 Materialien und Probenpräparation für die Analysen	27
4.1.1 Rezente Haifischzähne und Vergleichsmaterialien	27
4.1.2 Fossile Haifischzähne	31
4.1.3 Krokodilzähne	32
4.1.5 Synthetische Fluorapatit- und Hydroxylapatit-Kristallite	33
4.1.6 Synthetische Komposite	34
4.1.7 Mattierungsdispersionen	36
4.2 Darstellung von Fluorapatit- und Hydroxylapatit-Kristalliten	38
4.3 Darstellung von Fluorapatit/Polymer-Kompositen	41
4.4 Darstellung von wässrigen Mattierungsdispersionen	45
5. ERGEBNISSE UND DISKUSSION	47
5.1 Charakterisierung von rezenten Haifischzähnen	47
5.1.1 Makroskopische Strukturen von Dentin und Enameloid	47
5.1.2 Mikrostruktur des Enameloids	53
5.1.3 Strukturhierarchie von Haifischzähnen	59
5.1.4 Chemische und kristallographische Zusammensetzung	60
5.1.5 Lokale mechanische Eigenschaften	68
5.1.6 Korrelation der Analysen mit der Funktion der Zähne	79
5.1.7 Kapitelzusammenfassung: Rezente Haifischzähne	81
5.2 Charakterisierung von fossilen Haifischzähnen	82
5.2.1 Mikrostrukturen von Dentin und Enameloid	82

5.2.2 Chemische und kristallographische Zusammensetzung	85
5.2.3 Kapitelzusammenfassung: Fossile Haifischzähne	93
5.3 Charakterisierung von Krokodilzähnen	94
5.3.1 Mikrostrukturen von Dentin, Enamel und Wurzelzement	94
5.3.2 Chemische und kristallographische Zusammensetzung	98
5.3.3 Strukturuntersuchungen mittels Mikrocomputertomographie	105
5.3.4 Vickers-Mikrohärte	108
5.3.5 Korrelation der Analysen mit der Funktion der Zähne	109
5.3.6 Kapitelzusammenfassung: Krokodilzähne	110
5.4 Darstellung und Charakterisierung von biomimetischen Fluorapatit/Polymer-Kompositen	111
5.4.1 Herausforderungen für biomimetische Dentalkomposite	111
5.4.2 Synthese und Charakterisierung von Fluorapatit- und Hydroxylapatit- Kristalliten in unterschiedlichen Morphologien	114
5.4.3 Übersicht über die verwendeten Monomere	131
5.4.4 Synthese und Charakterisierung der synthetischen Komposite sowie Vergleich mit natürlichen Haifischzähnen	138
5.4.5 Korrosionsexperimente	165
5.4.6 Kapitelzusammenfassung: Synthetische Komposite	172
5.5 Darstellung und Charakterisierung von wässrigen Mattierungsdispersionen	173
5.5.1 Darstellung einer Mattierungsdispersion auf Basis von TiO ₂	173
5.5.2 Charakterisierung des Mattierungsfilms auf unterschiedlichen Materialoberflächen	178
5.5.3 Konservierung der Mattierungsdispersionen und biologische Tests	193
5.5.4 Kapitelzusammenfassung: Mattierungsdispersion	204
6. ZUSAMMENFASSUNG/SUMMARY	205

7. LITERATUR	211
8. ANHANG	222
8.1 Abkürzungsverzeichnis	222
8.2 Verzeichnis der wissenschaftlichen Veröffentlichungen	224
8.3 Lebenslauf	228
8.4 Erklärung	230
8.5 Danksagung	231

1. Einleitung

Zähne sind hierarchisch organisierte Kompositmaterialien, die aus einer Mineralphase, in den meisten Fällen Calciumphosphat, und einer organischen Matrix bestehen.^[1-6] Für Wirbeltiere, einschließlich des Menschen, übernehmen Zähne vor allem die lebenswichtige Aufgabe des Zerkleinerns von Nahrung. In unserer heutigen Gesellschaft sind gesunde Zähne auch aus ästhetischen Gründen von großer Bedeutung. Allerdings sind Zähne anfällig für Beschädigungen, beispielsweise durch Karies oder durch eine Erosion des Zahnminerals durch Säuren.^[7-10] Diese Beschädigungen können im schlimmsten Fall zum kompletten Zahnverlust führen.

Aus diesen Gründen hat sich die Zahnmedizin im Verlauf der Geschichte zu einer wichtigen medizinischen Disziplin entwickelt.

Bereits im Mittelalter wurde Zahnersatz aus Knochen und Elfenbein gefertigt, um defekte Zähne zu ersetzen.^[11] Heutzutage bietet die moderne Zahnmedizin eine Vielzahl an synthetischen Materialien, mit denen Zahndefekte restauriert und komplette Zähne ersetzt werden können.^[12-14]

Die gesellschaftlichen Kosten für modernen Zahnersatz sind sehr hoch. Die Ausgaben der gesetzlichen Krankenversicherungen in Deutschland für Zahnersatz sind von 2,70 (im Jahr 2006) um 17,8 % auf 3,18 Mrd. Euro (im Jahr 2011) gestiegen.^[15] Dies unterstreicht die wirtschaftliche Bedeutung von Zahnersatz und zeigt die Notwendigkeit, an der Entwicklung beständiger und kostengünstiger Zahnersatzmaterialien zu arbeiten.

Um eine möglichst optimale Passform für Zahnersatz im Mundraum des Patienten zu erzielen und damit die Folgekosten so gering wie möglich zu halten, ist es wichtig, die zu ersetzenden Zähne möglichst exakt abzuformen.

Dies erfolgt klassischerweise durch die Herstellung von Modellen, die anhand von Zahnabdrücken gefertigt werden. Hierfür gibt es spezielle Abformwerkstoffe, mit deren Hilfe in einem Dentallabor der Zahnersatz angefertigt wird.^[16]

In der Praxis gibt es viele synthetische Materialien, die für den Zahnersatz verwendet werden. Hierzu zählen, je nach Arte des Zahndefekts, Keramiken, Polymere, Amalgam und Gold.^[12-14, 16] Allerdings besitzen diese synthetischen Materialien nicht die Vorzüge des Materials natürlicher Zähne, beispielsweise eine kontinuierliche Remineralisierung durch die Abscheidung von Calciumphosphat aus dem Speichel,^[9, 17] und eine besonders hohe Bruchfestigkeit durch eine komplexe, hierarchisch organisierte Zahnmikrostruktur.^[18-20] Daher ist es sinnvoll, an der Entwicklung neuer Materialien mit verbesserten Eigenschaften zu arbeiten, um die Eigenschaften natürlicher Zähne möglichst detailgetreu nachzubilden.

Ein Ansatz zur Entwicklung innovativer Materialien ist die Biomimetik. Hierbei sucht man für technische Fragestellungen nach Beispielen aus der Natur, um deren Prinzipien nachzuahmen.^[21-22] Es liegt daher nahe, natürliche Zähne als Modellsysteme zu analysieren, um Inspirationen für neue Zahnersatzmaterialien zu gewinnen. Dieser Ansatz ist vielversprechend, da Zähne evolutionär über einen langen Zeitraum für ihre spezifische Funktion optimiert wurden.^[4] Überdies bestehen Zähne aus biokompatiblen Materialien und sind in der Regel aus einfachen Grundbausteinen aufgebaut, was für Synthesewege mit Blick auf eine spätere Anwendung von großer Bedeutung ist.

Humane Zähne wurden bereits umfassend mit unterschiedlichen Analysemethoden charakterisiert (siehe z.B. Referenzen^[2, 4-5, 18, 23-26]), sodass die Anforderungen an biomimetische Dentalmaterialien gut bekannt sind.

Ein vielversprechender Ansatz ist, die Zähne von Tieren zu untersuchen, die ihre Zähne für genau definierte Funktionen verwenden. Da die Struktur, die Zusammensetzung und die mechanischen Eigenschaften von Zähnen auf ihre Funktion abgestimmt und dafür optimiert sind, können für den Zahnersatz besonders wichtige Eigenschaften, wie z.B. die chemische Stabilität oder die Bruchfestigkeit, gezielt identifiziert und analysiert werden. Die entsprechenden Bauprinzipien können dann für neue biomimetische Materialien nachgeahmt

werden. Im Speziellen eignen sich hierfür die Zähne von sehr alten Spezies, die sich über viele Millionen Jahre behauptet haben. Hierzu zählen beispielsweise Haifische und Krokodile.^[27-30]

Die vorliegende Arbeit behandelt zwei Teilaspekte der modernen zahnmedizinischen Materialforschung.

Der erste basiert auf der detaillierten Charakterisierung biologischer Modellsysteme, d.h. Haifischzähne und Krokodilzähne, mit modernen physikalisch-chemischen Analysemethoden. Ausgehend von den gewonnen Erkenntnissen werden dann synthetische biomimetische Mineral/Polymer-Dentalkomposite entwickelt.

Mit modernen Kamerasystemen können dreidimensionale Aufnahmen von Zähnen angefertigt werden, sodass Zahnersatz sehr exakt, schnell und kosteneffizient direkt aus Keramikblöcken gefräst werden kann.^[16, 31] Da Zähne selbst stark spiegeln und somit keine genaue Vermessung möglich ist, wird im zweiten Teil dieser Arbeit die Entwicklung einer biokompatiblen Dispersion zur effektiven Mattierung von Zähnen vorgestellt.

2. Theoretische Grundlagen

2.1 Zähne

2.1.1 Struktur und Zusammensetzung von humanen Zähnen

Humane Zähne sind in der Vergangenheit bereits detailliert untersucht worden (siehe z.B. Übersichtsarbeiten von Teaford *et al.*^[4] und Busch *et al.*^[5]).

Jeder Zahn besteht, makroskopisch betrachtet, aus einer Krone, die im Gebiss sichtbar ist, und einer Wurzel. Die unterschiedlichen Materialien, aus denen ein Zahn aufgebaut ist, können hauptsächlich in Zahnschmelz (Enamel), Dentin und Wurzelzement eingeteilt werden (Abbildung 1).^[5]

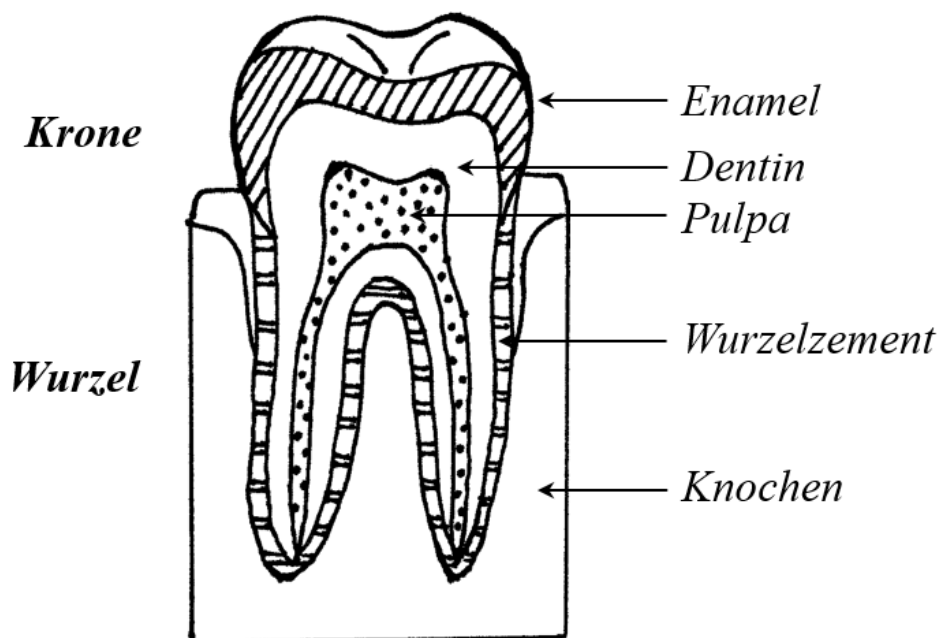


Abbildung 1: Schematische Darstellung eines Querschnitts eines humanen Zahns.

Der äußere Teil des Zahns ist mit Enamel bedeckt und das härteste Gewebe des menschlichen Körpers. Enamel besteht aus dicht gepackten Mikrometer-langen Kristallitbündeln ("Enamel-Prismen"), die etwa senkrecht vom Dentin-Enamel-Übergang zur Außenseite des Enamels angeordnet sind.^[5, 32] Im Inneren eines Zahns befindet sich das Dentin, das einen Großteil des Zahns ausmacht. Die

Apatit-Kristallite innerhalb des Dentins sind kleiner (Nanokristallite) als im Enamel (Mikrokristallite) und nicht so hoch geordnet. Der äußere Teil der Zahnwurzel besteht aus dem Wurzelzement, der in seine Struktur und Zusammensetzung dem Knochen ähnelt.^[1, 5]

Enamel besitzt einen sehr hohen Anteil an Calciumphosphat (ca. 97 Gew%), hauptsächlich Hydroxylapatit, $\text{Ca}_5(\text{PO}_4)_3(\text{OH})$. Der organische Anteil, hauptsächlich bestehend aus unterschiedlichen Proteinen und Lipiden, ist mit ca. 1 Gew% sehr gering. Der verbleibende Anteil besteht aus Wasser und Spurenelementen (Tabelle 1). Dentin ist ein knochenähnliches Material und besitzt einen organischen Anteil von etwa 20 Gew%, wobei Kollagen dessen Hauptbestandteil ist.^[5-6, 33] Im Gegensatz zum Enamel ist das Dentin ein lebendes Gewebe, welches Zellen enthält, die Dentin bilden können (Odontoblasten).^[5]

Typisch für biologische Apatite ist auch, dass im Gegensatz zum chemisch reinen Hydroxylapatit weitere Ionen, wie z.B. Na^+ und K^+ für Ca^{2+} , HPO_4^{2-} und CO_3^{2-} für PO_4^{3-} und F^- und Cl^- für OH^- , in das Apatit-Gitter eingelagert werden. Weitere Ionen können in Spuren vorhanden sein (z.B. Zn^{2+} und Cu^{2+} ; Tabelle 1).^[5-6] In humanem Enamel wurden mehr als 30 Elemente nachgewiesen.^[5]

Tabelle 1: Chemische Zusammensetzung humaner Zähne (Enamel und Dentin) im Vergleich zu humanen Knochen in Gew% (Werte entnommen aus: LeGeros^[6]). Neben den hier angegebenen Elementen können weitere Elemente in Spuren vorhanden sein.

Komponente	Enamel	Dentin	Knochen
Ca ²⁺	36,0	27,0	24,5
PO ₄ ³⁻ als P	17,7	13,0	10,5
Na ⁺	0,5	0,3	0,7
K ⁺	0,08	0,05	0,03
Mg ²⁺	0,44	1,1	0,55
CO ₃ ²⁻	2,3	4,5	5,8
F ⁻	0,01	0,05	0,02
Cl ⁻	0,30	0,01	0,10
P ₂ O ₇ ⁴⁻	0,022	0,08	0,05
Gesamter mineralischer Anteil	97	70	65
Gesamter organischer Anteil	1,0	20	25
Adsorbiertes H ₂ O	1,5	10,6	8,7

2.1.2 Struktur und Zusammensetzung von Haifischzähnen

Im Vergleich zu humanen Zähnen sind die Zähne von Haifischen relativ wenig erforscht. Hierbei fehlen insbesondere detaillierte Strukturuntersuchungen und die Analyse der lokalen mechanischen Eigenschaften in Kombination mit chemischen Analysen.

Haifische besitzen ein sogenanntes "Revolvergebiss" und wechseln ihre Zähne regelmäßig. Für die Spezies *Triakis semifasciata* wurde eine Wechselrate der

Zähne von 9-12 Tagen und für *Ginglymostoma cirratum* eine Wechselrate der Zähne von 28 Tagen bestimmt. Dabei ist die Wechselrate der Zähne auch vom Alter und der Ernährung der Haifische abhängig.^[34]

Haifischzähne haben unterschiedliche makroskopische Formen, die evolutionär ihrer spezifischen biologischen Funktion angepasst sind. Haifischzähne können auf der Basis ihrer makroskopischen Form eingeordnet werden. Beispiele sind: "*tearing-type*" (reißen), "*cutting-type*" (schneiden) und "*cutting-clutching type*" (schneiden und greifen).^[35-38]

Innerhalb des Haifischzahnschmelzes (Enameloid) gibt es unterschiedliche Gewebeschichten, die durch strukturelle Analysen von angeätzten Zahnproben klassifiziert wurden.^[39] Dabei wurden drei Schichten gefunden und als "*shiny-layered enameloid* (SLE)", "*parallel-bundled enameloid* (PBE)" und "*tangled-bundled enameloid* (TBE)" benannt.

Generell lässt sich das Enameloid in zwei Struktureinheiten einteilen: Eine äußere Schicht ("*shiny layer*") und eine innere Schicht, die aus Kristallitbündeln besteht.^[40] Von außen nach innen wechseln die geordneten Kristallitbündel des PBEs in den ungeordneteren TBE. Am Dentin-Enameloid-Übergang sind im TBE hauptsächlich ungeordnete Kristallite vorhanden, aber keine definierten Kristallitbündel.^[40]

Haifischzähne bestehen im Wesentlichen aus Fluorapatit, $\text{Ca}_5(\text{PO}_4)_3\text{F}$,^[41-42] mit einer partiellen Substitution von PO_4^{3-} durch CO_3^{2-} und F^- durch OH^- .^[43] In humanen Zähnen macht der Einbau von Fluorid in das Apatit-Gitter den Zahnschmelz widerstandsfähiger gegen Säureangriffe.^[10] Suga *et al.* zeigten, dass die Zähne vieler Fischarten Fluorid enthalten. Dabei ist der Fluoridgehalt in den Zähnen nicht von der Nahrung oder dem Fluoridgehalt des Wassers abhängig.^[44] Die Bildung des Enameloids lässt sich in drei Teile gliedern. Erst bildet sich die organische Matrix, danach erfolgt die Mineralisierung des Enameloids und schließlich die weitere Reifung des Enameloids.^[45-46] Einzelne Fluorapatit-Kristallite wachsen in Vesikeln, die von Odontoblasten gebildet werden. Während

der Mineralisierung verschwinden die Vesikel und einzelne Kristallite in unterschiedlichen Mineralisierungsgraden können beobachtet werden.^[45]

2.1.3 Struktur und Zusammensetzung von Krokodilzähnen

Krokodile gehören zu einer sehr alten phylogenetischen Gruppe, die sich seit Millionen von Jahren behauptet hat.^[30, 47] Verglichen mit anderen Tieren, zeigen Krokodile besonders hohe Bisskräfte.^[30]

Studien über die Analyse des Enamels von Reptilienzähnen wurden beispielsweise von Dauphin^[48], Sahni^[49] und Sander^[50] durchgeführt. Allerdings wurden Reptilienzähne bislang nicht so detailliert untersucht, wie z.B. humane Zähne oder die Zähne anderer Tiere. Ein Grund dafür ist, dass das Enamel von Reptilien keine definierten Enamelprismen enthält, deren Struktur man besser analysieren kann. Aufgrund der Abwesenheit von Kristallitbündeln im Enamel von Reptilienzähnen, wird dieses in der Literatur als "*prismless enamel*" bezeichnet.^[51]

Im Gegensatz zu humanen Zähnen, werden die Zähne von Krokodilen kontinuierlich ersetzt.^[52-54] Für ein etwa 4 m großes Krokodil wurde abgeschätzt, dass ein Zahn etwa 45-mal während seines Lebens ersetzt wird.^[54]

Dieser kontinuierliche Ersetzungsmechanismus der Zähne wurde in aktuellen Arbeiten von Wu *et al.* detailliert an der Alligatorspezies *Alligator mississippiensis* untersucht.^[55] Dabei bildet jeder funktionelle Zahn eine Einheit mit dem neuen Zahn, der den funktionellen Zahn später ersetzt. Der neue Zahn wächst und induziert damit die Resorption der Wurzel des alten Zahns, der dann abgestoßen wird.^[55] Ähnlich funktioniert der Prozess in humanen Zähnen. Beim Wechsel von Milchzähnen zu permanenten Zähnen, wird die Wurzel des alten Zahns von Osteoklasten resorbiert.^[56]

2.2 Calciumphosphate

Das am häufigsten vorkommende Mineral in Zähnen und Knochen bei Säugetieren ist Calciumphosphat.^[1]

Es gibt viele verschiedene Calciumphosphate, wobei das molare Ca/P-Verhältnis und die Wasserlöslichkeit für jede Verbindung charakteristisch sind.^[1] Synthetische Calciumphosphate können in Wasser gefällt werden, wobei der pH-Wert entscheidend dafür ist, welches Calciumphosphat gebildet wird, da es je nach pH-Wert verschiedene Protolysestufen der Phosphorsäure gibt, d.h. H_3PO_4 , H_2PO_4^- , HPO_4^{2-} und PO_4^{3-} .^[57] Diese unterschiedlichen Ionen können mit Calciumionen kombiniert werden (eventuell auch noch mit Wassermolekülen) und bilden deshalb eine große Vielfalt der Calciumphosphate (Tabelle 2).^[1, 58]

Tabelle 2: Übersicht über die wichtigsten Calciumphosphate mit ihren charakteristischen molaren Ca/P-Verhältnissen und Summenformeln (Werte entnommen aus Epple^[58]).

Molares Ca/P-Verhältnis	Name der Verbindung	Formel
0,5	Monocalciumphosphat-Monohydrat	$\text{Ca}(\text{H}_2\text{PO}_4)_2 \cdot \text{H}_2\text{O}$
0,5	Monocalciumphosphat-Anhydrat	$\text{Ca}(\text{H}_2\text{PO}_4)_2$
1,0	Dicalciumphosphat-Dihydrat (Brushit)	$\text{CaHPO}_4 \cdot 2 \text{H}_2\text{O}$
1,0	Dicalciumphosphat-Anhydrat (Monetit)	CaHPO_4
1,33	Octacalciumphosphat	$\text{Ca}_8(\text{HPO}_4)_2(\text{PO}_4)_4 \cdot 5 \text{H}_2\text{O}$
1,5	α -Tricalciumphosphat	$\alpha\text{-Ca}_3(\text{PO}_4)_2$
1,5	β -Tricalciumphosphat	$\beta\text{-Ca}_3(\text{PO}_4)_2$
1,2-2,5	Amorphes Calciumphosphat	$\text{Ca}_x(\text{PO}_4)_y \cdot n \text{H}_2\text{O}$
1,5-1,67	Calcium-defizitärer Hydroxylapatit	$\text{Ca}_{10-x}(\text{HPO}_4)_x(\text{PO}_4)_{6-x}(\text{OH})_{2-x}$
1,67	Hydroxylapatit	$\text{Ca}_5(\text{PO}_4)_3(\text{OH})$
2,0	Tetracalciumphosphat	$\text{Ca}_4(\text{PO}_4)_2\text{O}$

Für diese Arbeiten ist besonders der Hydroxylapatit, $\text{Ca}_5(\text{PO}_4)_3(\text{OH})$, von Bedeutung, da er in menschlichen Zähnen und Knochen die Mineralphase bildet.^[1, 59] Von allen in Tabelle 2 angegebenen Calciumphosphaten ist der Hydroxylapatit das am wenigsten lösliche und daher stabilste Calciumphosphat. Allerdings sind alle Calciumphosphate säurelöslich. Reiner Hydroxylapatit, der keine Fremdionen enthält, besitzt eine monokline Kristallstruktur. Er kann aber bei hohen Temperaturen ($> 250\text{ °C}$) in eine hexagonale Form übergehen. Die hexagonale Struktur des Hydroxylapatits ist bei Raumtemperatur beständig, wenn Fremdionen (z.B. Fluoridionen oder Chloridionen) in das Apatit-Gitter eingebaut werden.^[1] Chemisch reiner Hydroxylapatit kommt in biologischen Apatiten ("Bioapatiten"), z.B. in Zähnen und Knochen, nicht vor, da immer Fremdionen, wie z.B. Mg^{2+} , Na^+ , CO_3^{2-} oder F^- , in das Apatit-Gitter eingelagert werden (Tabelle 1).^[1, 6]

Gibt es eine vollständige Substitution der Hydroxidionen durch Fluoridionen im Apatit-Gitter, so spricht man von Fluorapatit, $\text{Ca}_5(\text{PO}_4)_3\text{F}$. Der Einbau von Fluoridionen in das Apatit-Gitter führt zu einer Verkleinerung des Kristallvolumens und zu einer Zunahme der strukturellen Stabilität.^[60] Fluorapatit kommt in biologischen Systemen vor allem in Haifischzähnen vor, wobei der Fluoridanteil im Haifischzahn-Enameloid nahezu stöchiometrisch ist (ca. 3 Gew%).^[41-42]

Fluorapatit besitzt als reines Mineral einige Vorzüge gegenüber Hydroxylapatit. Fluorapatit ist härter als Hydroxylapatit, weil es einen höheren Kompressionsmodul^[61] und einen höheren Elastizitätsmodul besitzt.^[62] Überdies weist Fluorapatit eine bessere Säurebeständigkeit als Hydroxylapatit auf.^[63]

Synthetisch können Fluorapatit-Kristallite^[64-65] und Hydroxylapatit-Kristallite^[66-68] beispielsweise mittels Hydrothermalsynthesen dargestellt werden. Der Begriff "Hydrothermalsynthese" beschreibt dabei eine Reaktion, die im wässrigen Medium bei einer Temperatur $> 100\text{ °C}$ und einem Druck $> 1\text{ bar}$ durchgeführt

wird. In der Natur wachsen viele Mineralien unter ähnlichen Bedingungen, sodass man deren Synthese in einem Autoklaven nachahmen kann.^[69]

2.3 Wichtige dentale Materialien

Um fehlende Zähne zu ersetzen bzw. Zahndefekte zu restaurieren, muss ein Zahnersatz bzw. eine Zahnrestauration angefertigt werden.

Es gibt verschiedene dentale Materialien, die je nach Situation ausgewählt werden können.^[14] Einen guten Überblick über verschiedene dentale Materialien bietet das entsprechende Kapitel in *Ullmann's Encyclopedia of Industrial Chemistry*.^[12] Zu den wichtigsten Kunststoffen in der Zahnmedizin gehören auf Polymethylmethacrylat (PMMA) basierende Kunststoffe.^[11, 16] Im Kapitel 5.4 wird darauf detailliert eingegangen. Darüber hinaus gibt es viele weitere Materialien für dentale Anwendungen.^[12-14]

Für den Zahnersatz werden häufig Dentalkeramiken verwendet. Hierzu zählen Sinterkeramiken auf Feldspatbasis oder auf Aluminium- und Zirkonoxidbasis sowie Glaskeramiken. Diese Dentalkeramiken sind chemisch sehr stabil, biokompatibel und werden in der Regel im Dentallabor angefertigt und bearbeitet.^[16]

Als Zahnfüllungsmaterial wird häufig Silberamalgam verwendet. Silberamalgam wird hergestellt, indem man ein Pulver, das hauptsächlich aus Silber (und weiteren Bestandteilen, wie z.B. Zinn und Kupfer) besteht, mit Quecksilber vermischt. Direkt nach dem Vermischen ist das Silberamalgam plastisch verformbar und füllt die Hohlräume im Zahn somit gut aus. Nach einer gewissen Zeit härtet es dann von selbst aus. Aufgrund seiner gräulichen Farbe wird Silberamalgam allerdings meist nur im Bereich der Backenzähne verwendet.^[12, 57]

2.4 Biomimetik

Aus materialwissenschaftlicher Sicht sind biologische Hartgewebe Kompositmaterialien, die aus anorganischen und organischen Bestandteilen

hierarchisch aufgebaut sind. Diese Bestandteile sind mit zunehmender Komplexität auf unterschiedlichen Hierarchieebenen kombiniert.^[70] Die häufig außergewöhnlichen mechanischen Eigenschaften biologischer Komposite sind auf ihre komplexen, hierarchisch organisierten Mikrostrukturen zurückzuführen.^[3, 71-72]

Um biomimetische Materialien entwickeln zu können, ist es erforderlich, zuerst die Mikrostruktur, die chemische Zusammensetzung und die resultierenden mechanischen Eigenschaften des jeweiligen biologischen Modellsystems zu analysieren.^[41, 73-77]

2.5 Anwendungsbezogene Aspekte von dentalen Materialien

Um einen Zahndefekt restaurieren zu können, ist es wichtig, die genaue Situation im Mundraum zu kennen, d.h. die exakte Position der Zähne neben dem Defekt und auch die der gegenüberliegenden Zähne.

Typischerweise werden deshalb Abformwerkstoffe, wie z.B. Alginate, Polyether oder Silicone, verwendet, um einen Zahnabdruck zu erstellen.^[16]

Überdies gibt es die Möglichkeit Zähne digital zu vermessen (z.B. mit einer CEREC Blue-cam der Firma Sirona).^[31] Das Funktionsprinzip beruht bei diesem Verfahren darauf, dass ein Muster von Linien, die parallel zueinander orientiert sind, auf den Zahn projiziert wird. Informationen über die Höhe in dem jeweiligen Bereich des Zahns lassen sich über die Verzerrung der Linien ermitteln. Die Detailgenauigkeit dieser Vermessungsmethode ist dabei abhängig von der Wellenlänge des verwendeten Lichts. Deshalb wird kurzwelliges blaues Licht verwendet, was eine bessere Detailtreue liefert als z.B. das längerwellige rote Licht.^[31]

3. Analysemethoden

3.1 Rasterelektronenmikroskopie (REM)

Die Mikrostruktur von Oberflächen kann mittels Rasterelektronenmikroskopie (REM) sichtbar gemacht werden. Dabei ist die Auflösung besser als bei einem Lichtmikroskop (Auflösung: ca. 1 μm bei einem Lichtmikroskop und ca. 1-10 nm bei einem Rasterelektronenmikroskop).^[78]

Bei der Rasterelektronenmikroskopie wird die Probe mit einem feinfokussierten Elektronenstrahl abgerastert.^[58, 78] Zur Auswertung gibt es zwei wesentliche Verfahren. Zum einen können die von der Probe stammen Sekundärelektronen (SE) ausgewertet werden, zum anderen die von der Probe zurückgestreuten Elektronen (engl.: *backscattered electrons*; BSE). Im SE-Modus werden Informationen zur Topographie der Probenoberfläche erhalten, und im BSE-Modus werden Informationen über den Materialkontrast gewonnen.

Proben, die nicht leitend sind, müssen mit einer leitenden Schicht (z.B. mit Gold oder Palladium) bedampft werden. Um eine Wechselwirkung der Elektronen mit den in der Luft vorhandenen Molekülen zu verhindern, wird die Messung in der Regel im Hochvakuum durchgeführt.^[58, 79]

3.2 Energiedispersive Röntgenspektroskopie (EDX)

Die energiedispersive Röntgenspektroskopie (engl.: *energy dispersive X-ray spectroscopy*; EDX) ist eine Methode der Materialanalytik, die überwiegend in Kombination mit Elektronenmikroskopen eingesetzt wird.^[58]

Bei dieser Methode wird die Probenoberfläche mit Elektronen bestrahlt. Dabei werden kernnahe Elektronen herausgeschlagen und es entstehen Lücken. Energetisch höher liegende Elektronen füllen diese Lücken auf und charakteristische Röntgenstrahlung wird dabei emittiert. Diese freiwerdende Röntgenstrahlung ist elementspezifisch.^[79] Durch eine Fokussierung des Elektronenstrahls auf einen bestimmten Probenbereich, kann die chemische Zusammensetzung in einzelnen Bereichen der Probe bestimmt werden.^[58]

3.3 Röntgenpulverdiffraktometrie (XRD)

Die Röntgenpulverdiffraktometrie (engl.: *X-ray diffraction*; XRD) basiert auf der Beugung von Röntgenstrahlen an Kristallstrukturen.^[58] Unter bestimmten Winkeln wird die Röntgenstrahlung reflektiert. Die *Braggsche Gleichung* muss erfüllt sein, damit eine Beugung stattfinden kann. Das bedeutet, dass nur bestimmte Winkel zugelassen sind, wobei das Produkt aus $2 d \sin\Theta$ einem ganzzahligen Vielfachen der Wellenlänge entsprechen muss:^[58, 80]

$$n \lambda = 2 d \sin \Theta.$$

n Ordnung der Beugung ($n=1, 2, 3, \dots$)

λ Wellenlänge der Röntgenstrahlung

d Netzebenenabstand

Θ Beugungswinkel

Kristalline Substanzen können mittels Röntgenpulverdiffraktometrie analysiert werden, und durch Abgleich mit Datenbanken kann die entsprechende Phase (bzw. je nach Probe eventuell auch mehrere Phasen) dem gemessenen Pulverdiffraktogramm zugeordnet werden.

Die Größe der kristallinen Domänen kann mithilfe der *Scherrer-Gleichung* abgeschätzt werden:^[58]

$$D_{hkl} = \frac{K \lambda}{\beta_{hkl} \cos \Theta}.$$

D_{hkl} Angenäherte Domänengröße in (hkl)-Richtung

K Formfaktor

λ Wellenlänge der Röntgenstrahlung

β_{hkl} Volle Halbwertsbreite des Reflexes (hkl)

Θ Beugungswinkel

Die Röntgenpulverdiffraktometrie ist besonders dann von Vorteil, wenn man von Substanzen keine geeigneten Einkristalle für eine Einkristallstrukturbestimmung erhalten kann. Neben dem gemessenen Pulverdiffraktogramm lassen sich durch eine Strukturverfeinerung nach der *Rietveld-Methode* weitere Daten, wie z.B. die Gitterparameter von Substanzen, ermitteln.^[80]

3.4 Thermogravimetrie (TG)

Bei der Thermogravimetrie (TG) wird die Probe in einem Tiegel mit einem linearen Temperaturprogramm aufgeheizt. Die Probenmasse wird dabei kontinuierlich mithilfe einer Thermowaage gemessen.^[58, 81-82]

Masseänderungen während des Aufheizens können dabei auf chemische oder physikalische Vorgänge zurückgeführt werden. Dabei entstehen flüchtige Stoffe, wie z.B. Wasser (als Wasserdampf) oder CO₂. Somit können beispielsweise Zersetzungs Vorgänge wie die Abgabe von Wasser und der Abbrand von organischen Bestandteilen quantitativ erfasst werden.

Die Messung kann dabei unter verschiedenen Atmosphären (z.B. O₂ oder Ar) durchgeführt werden. Mittels Thermogravimetrie können heutzutage Proben bis ca. 2500 K aufgeheizt werden.^[83]

Um Masseänderungen besser sichtbar machen zu können, wird das resultierende Thermogramm häufig auch differenziert (Derivativ-Thermogravimetrie; DTG).^[81]

Darüber hinaus ist es möglich, die Thermogravimetrie mit anderen Analysemethoden zu koppeln. Hierzu kommen Massenspektrometrie, Gaschromatographie und IR-Spektroskopie in Betracht, womit die entstehenden Gase oder Reaktionsprodukte näher charakterisiert werden können.^[81]

3.5 Elementaranalyse

Die Elementaranalyse wird vorwiegend dazu genutzt, um die chemische Zusammensetzung organischer Substanzen zu bestimmen.^[84]

Routinemäßig wird bei der Elementaranalyse Kohlenstoff, Wasserstoff, Stickstoff und Schwefel gemessen (CHNS-Analyse). Die zu messende Probe wird bei ca. 900 °C unter Sauerstoff verbrannt. Anschließend erfolgt eine chromatographische oder adsorptive Trennung des Gases. Die Quantifizierung erfolgt häufig mit einem Wärmeleitfähigkeitsdetektor.^[84]

3.6 Atomabsorptionsspektrometrie (AAS)

Die quantitative Bestimmung vieler Elemente (meist Metalle) kann mithilfe der Atomabsorptionsspektrometrie (AAS) durchgeführt werden.^[81, 85]

Dabei erfolgt zuerst eine Atomisierung der Probe. Dies geschieht beispielsweise durch das Einsprühen der Probe in eine Flamme (z.B. eine Luft-Acetylen-Flamme mit einer Temperatur von ca. 2550 K^[81]), wodurch die Probe verdampft und zersetzt wird. Danach wird gemessen, wie stark Licht im UV-Vis-Bereich von den freien Atomen in der Gasphase absorbiert wird. Die Atome liefern dabei ein Linienspektrum mit Absorptionslinien, das für das jeweilige Element charakteristisch ist. Zur Auswertung wird dann eine einzelne Linie im Spektrum verwendet. Aus der gemessenen Absorption kann man dann mithilfe einer vorher ermittelten Kalibrationsgeraden auf die Konzentration des Elements schließen.^[85]

3.7 Ultraviolett (UV) Spektroskopie

Bei der UV/Vis-Spektroskopie wird die Probe mit monochromatischem Licht der Intensität I_0 bestrahlt. Wenn die Probe einen Teil dieses Lichts absorbiert, verringert sich die Intensität zu I . Das Spektrometer zeigt die Absorption an: $\log(I_0/I)$.^[85] Dabei gilt das *Lambert-Beersche Gesetz*.^[81]

$$E(\lambda) = \epsilon_{\lambda} c d .$$

$E(\lambda)$ Extinktion

ϵ_{λ} Extinktionskoeffizient

c Konzentration

d Schichtdicke

Die Lichtabsorption beruht dabei auf unterschiedlichen Elektronenübergängen innerhalb eines Moleküls. Dabei gibt es spezielle Auswahlregeln für die Wahrscheinlichkeit des Übergangs von Elektronen zwischen zwei Orbitalen.^[85] Durch die geringe Anregungsenergie im UV- und sichtbaren Bereich werden hierbei aber nur Elektronen in den äußeren Orbitalen, d.h. die Valenzelektronen, angeregt. Die resultierenden Absorptionsspektren werden zur Analyse anorganischer und organischer Verbindungen verwendet.^[81]

3.8 Infrarot (IR) Spektroskopie

Die Infrarot (IR) Spektroskopie ist eine Methode der Schwingungsspektroskopie.^[84-85]

Die Probe wird mit IR-Strahlung bestrahlt und dadurch werden Moleküle zum Schwingen angeregt. Dabei sind im IR-Spektrum nur die Schwingungen sichtbar, bei denen sich das Dipolmoment des Moleküls ändert. Es werden unterschiedliche Schwingungen unterschieden. Diese lassen sich beispielsweise in Valenzschwingungen, Deformationsschwingungen und Schwingungen aus der Ebene einteilen (engl.: *out-of-plane*).^[85]

Die IR-Spektroskopie wird häufig verwendet, um funktionelle Gruppen in Molekülen nachzuweisen. Bei niedrigeren Wellenzahlen im IR-Spektrum liegt der sogenannte Fingerabdruck-Bereich (engl.: *fingerprint*). Dieser Bereich wird

häufig zur Identifikation von Molekülen eingesetzt, da er charakteristisch für ein Molekül ist.^[85]

Zur Probenpräparation von Feststoffen, wird die zu messende Substanz meist in Kaliumbromid-Presslingen (IR-transparent) eingebettet und anschließend vermessen.^[86]

3.9 Vickers-Mikrohärteprüfung

Die Härte von Materialien wird sehr häufig nach dem Eindringprinzip bestimmt.^[87]

Die Vickers-Mikrohärteprüfung ist in DIN EN ISO 6507-1 und DIN EN ISO 6507-4 beschrieben und gehört in die Klasse der statischen Eindringverfahren.^[87-88] Bei der Vickers-Mikrohärteprüfung wird eine Diamantpyramide senkrecht in die Probe eingedrückt (typischerweise für einen Zeitraum von 10-15 s).^[88]

Die Probenoberfläche muss planar sowie geschliffen und poliert sein. Um die Härte zu bestimmen, wird der resultierende quadratische Eindruck ausgewertet (Abbildung 2).^[89]

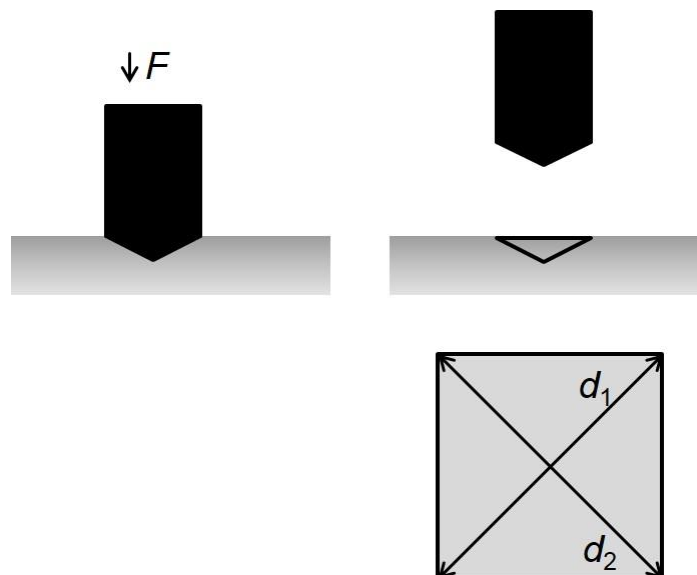


Abbildung 2: Schematische Darstellung der Vickers-Mikrohärteprüfung. Eine Diamantpyramide wird in die Probenoberfläche eingedrückt. Der resultierende Abdruck wird vermessen und ausgewertet (Schema nach Bargel und Schulze^[89]).

Die Härte des Materials wird nach dem Vermessen der Diagonalen mithilfe folgender Formel bestimmt:^[87]

$$HV=0,102 \cdot \frac{\text{Prüfkraft}}{\text{Oberfläche des Eindrucks}} = 0,102 \cdot \frac{2 \cdot F \cdot \sin \frac{136^\circ}{2}}{d^2} \approx 0,1891 \cdot \frac{F}{d^2}$$

F Prüfkraft (in N)

d Arithmetischer Mittelwert der Längen der beiden Diagonalen (in mm)

Das bedeutet, dass eine kleine Eindruckfläche auf eine höhere Härte hinweist als eine große Eindruckfläche.

Die Prüfkraft bei der Vickers-Mikrohärteprüfung liegt im Bereich von 1,96-980 N. Die Vickers-Mikrohärteprüfung kann sowohl für harte (Hartmetall: 1500 HV), als auch für weiche (Blei: 3 HV) Materialien durchgeführt werden.^[89]

3.10 Nanoindentation

Wie die Vickers-Mikrohärteprüfung, gehört auch die Nanoindentation zu den Eindringverfahren.^[90] Allerdings liegt der Größenbereich der Eindrücke im Nanometerbereich. Somit können beispielsweise dünne Filme untersucht werden.^[91-92] Wichtig ist diese Methode auch für die mechanische Charakterisierung von biologischen Hartgeweben, da hier auch kleinste Einheiten innerhalb komplexer Strukturen untersucht werden können.^[77, 93-95]

Mittels Eindringverfahren wird die Kontaktfläche, d.h. die Fläche des Kontaktes zwischen Prüfkörper und der Probenoberfläche gemessen. Bei klassischen Härteprüfungsmethoden, wie z.B. bei der Vickers-Mikrohärteprüfung (siehe Kapitel 3.9), ist der Eindruck groß genug, sodass er exakt vermessen werden kann. Bei der Nanoindentation sind die Eindrücke aber sehr viel kleiner und können nicht routinemäßig ausgewertet werden. Deshalb wird stattdessen die

Eindringtiefe des Prüfkörpers (mit definierter Geometrie) in die Probenoberfläche gemessen.^[90]

Typischerweise werden Kräfte im Bereich von Millinewton verwendet. Die Eindringtiefe des Prüfkörpers liegt im Bereich von Mikrometern, wobei eine Auflösung von wenigen Nanometern erreicht werden kann. Als Prüfkörper bei der Nanoindentation werden z.B. der Berkovich- oder der Knoop-Prüfkörper verwendet, die sich in ihrer Geometrie unterscheiden.^[90]

Mithilfe der Nanoindentation kann nicht nur die Nanohärte H von Materialien bestimmt werden, sondern auch weitere mechanische Eigenschaften wie z.B. der reduzierte Elastizitätsmodul E_{red} .

H und E_{red} (jeweils in GPa) werden wie folgt bestimmt:^[94, 96]

$$H = \frac{P_{\text{max}}}{A_c}$$

H Nanohärte

P_{max} maximale Belastungskraft

A_c Kontaktfläche

und

$$E_{\text{red}} = \frac{\sqrt{\pi}}{2\beta} \frac{S}{\sqrt{A_c}} .$$

E_{red} Reduzierter Elastizitätsmodul

β Konstante für die jeweilige Prüfkörpergeometrie (z.B. 1,034 für einen Berkovich-Prüfkörper^[94])

S Steigung am Beginn der Entlastungskurve (dP/dH)

A_c Kontaktfläche

.

4. Experimenteller Teil

4.1 Materialien und Probenpräparation für die Analysen

4.1.1 Rezente Haifischzähne und Vergleichsmaterialien

Rezente Haifischzähne der Spezies *Isurus oxyrinchus* (Kurzflossen-Mako) und *Galeocerdo cuvier* (Tigerhai) wurden aus kommerziellen Quellen bezogen. Die Zähne wurden in trockenem Zustand geliefert und gelagert. Für einen Vergleich der Haifischzähne mit humanen Zähnen wurde ein humaner Weisheitszahn untersucht. Als Referenzmaterial zu den Haifischzähnen wurde auch ein geologischer Fluorapatit-Kristall analysiert.

Rasterelektronenmikroskopische Analysen wurden zur Strukturuntersuchung von Dentin, Enameloid und des Dentin-Enameloid-Übergangs durchgeführt. Für einen transversalen Gefrierbruch wurden die Zähne für 2 min in flüssigen Stickstoff getaucht und mechanisch in zwei Teile gebrochen. Für weitere rasterelektronenmikroskopische Untersuchungen an Schliffproben und die Indentationstests wurden die Zähne axial und transversal mit einer Säge durchtrennt und in einem Harz (Phenolharz mit Kohlefasern; Polyfast, Struers) mit einer Heißpresse (150 bar, 5 min Heizen, 180 °C; SimpliMet 3000 Instrument, Buehler) eingebettet. Anschließend wurden die Proben mit Schleifpapieren der Korngrößen 120, 220, 400, 600 und 1000 geschliffen (Hermes) und erst mit einer 3 µm Diamantsuspension (Struers) und abschließend mit einer 0,1 µm Silicasuspension final poliert (Buehler; Saphir 320/330 Instrument, ATM). Die rasterelektronenmikroskopischen Aufnahmen im Sekundärelektronen- (SE) und im Rückstreuielektronenkontrast (BSE) wurden an einem ESEM Quanta 400 FEG und an einem JEOL JSM-6500F durchgeführt.

Ein Zahn von *I. oxyrinchus* wurde auch mittels Synchrotron-Mikrocomputertomographie analysiert. Diese Analysen wurden an der BAMline, BESSY am Helmholtz-Zentrum Berlin durchgeführt. Die Auflösung betrug 1,752 µm, die Energie 20 KeV und es wurden 600 Projektionen angefertigt. Die Daten wurden mithilfe der Software NRecon rekonstruiert.

Messungen mittels Infrarot (IR) Spektroskopie und Röntgenpulverdiffraktometrie wurden durchgeführt, um die chemische Zusammensetzung der Zähne zu analysieren. Zur Durchführung dieser Messungen wurden die Haifischzähne transversal geschnitten (Proxxon FBS 230/E). Ein feines Pulver von Dentin und Enameloid wurde mit demselben Gerät abgeschliffen. Auch von dem geologischen Fluorapatit wurde ein feines Pulver gewonnen, das dann mittels Elementaranalyse, Röntgenpulverdiffraktometrie und IR-Spektroskopie untersucht wurde. Die IR-Spektren wurden mit einem Bruker Vertex 70 Spektrometer in KBr-Presslingen aufgenommen (Messbereich: $400\text{-}4000\text{ cm}^{-1}$ und Auflösung: 2 cm^{-1}).

Die Messungen mittels Röntgenpulverdiffraktometrie wurden an einem Bruker D8 Diffraktometer (Cu K_α Strahlung, $\lambda=1,54\text{ \AA}$) durchgeführt. Als Probenhalter wurde ein Silicium-Einkristall verwendet. Die Bestimmung der Gitterparameter und der Domänengröße wurde mit der Bruker Software TOPAS 4.2 durchgeführt. Die Domänengröße wurde nach der Scherrer-Gleichung berechnet.^[97]

Elementaranalysen wurden durchgeführt, um die chemische Zusammensetzung der Proben zu bestimmen und zur Bestätigung der Mineralphasen, die mittels Röntgenpulverdiffraktometrie bestimmt wurden. Für die Bestimmung von Calcium, Magnesium und Natrium mit Atomabsorptionsspektrometrie, Fluorid mit Ionen-selektiver Potentiometrie und Phosphat mit Ultraviolett (UV) Spektroskopie wurden ca. 100 mg Pulver von Dentin und Enameloid verwendet. Calcium, Magnesium und Natrium wurden mit einem Atomabsorptionsspektrometer der Firma Thermo Electron, M-Serie bestimmt. Der Anteil an Phosphat wurde mit einem Varian Cary 300 UV-Vis Spektrometer als Phosphat-Molybdän-Komplex ermittelt. Die Fluoridanalysen wurden durch die Analytischen Laboratorien GmbH, Lindlar, mit einer Ionen-selektiven Elektrode (ISE; pH/ION 735, WTW) durchgeführt.

Thermogravimetrische Messungen wurden durchgeführt, um den Anteil an Wasser, organischer Matrix und Carbonat zu bestimmen. Dafür wurden die Zähne

transversal geschnitten. Um möglichst reines Enameloid zu erhalten, wurde die Zahnspitze verwendet (ca. 70 mg je Zahn). Für die Analyse des Dentins wurde der untere Teil des Zahns, nahe der Wurzel verwendet (ca. 70 mg je Zahn). Ein mechanischer Abtrag von Dentin und Enameloid, wie für die oben beschriebenen Analysen, wurde nicht durchgeführt, da durch die hohen Temperaturen eventuell die organische Matrix beschädigt worden wäre. Die thermogravimetrischen Messungen wurden mit einem Netzsch STA 449 F3 Jupiter Gerät in einer dynamischen Sauerstoffatmosphäre (Heizrate: 2 K min^{-1} , Temperaturbereich: $30\text{--}1200 \text{ }^{\circ}\text{C}$) in offenen Aluminiumtiegel durchgeföhrt.

Die lokalen mechanischen Eigenschaften der Proben wurden mittels Mikro- und Nanoindentation untersucht, wobei hierfür die geschliffenen und polierten Zahnproben verwendet wurden.

Die Nanoindentationsexperimente wurden an einem Hysitron TriboIndenter mit einem Berkovich Indentationskörper (Ti 39-01, Spitzenradius 50 nm) durchgeföhrt. Eine konstante Kraft von $300 \text{ }\mu\text{N}$ wurde verwendet. Um repräsentative Ergebnisse zu erhalten, wurden 400 Indentationen in einem 20×20 Muster durchgeföhrt. Der Abstand zwischen den Indentationen lag bei $10,5 \text{ }\mu\text{m}$. Die Indentationen wurden an unterschiedlichen Positionen im Dentin und Enameloid bzw. Enamel von Haifischzähnen, humanen Zähnen und dem geologischen Fluorapatit durchgeföhrt. Die Berechnung des reduzierten E-Moduls E_{red} und der Nanohärte H wurde nach der Methode von Oliver und Pharr durchgeföhrt.^[94, 96]

Vickers Mikrohärteprüfungen wurden an einem Leco M-400-H1-Mikrohärtemessgerät durchgeföhrt. Die Proben wurden mit einem Gewicht von 10 g ($\text{HV}0,01$) für jeweils 15 s indentiert. Es wurden jeweils acht Indentationen im Dentin und Enameloid/Enamel von Haifischzähnen und humanen Zähnen durchgeföhrt. Die Experimente wurden nach DIN EN ISO 6507-1 und DIN EN ISO 6507-4 durchgeföhrt. Die Vickers-Mikrohärte $\text{HV}0,01$ wurde in Werte der Nanohärte (Berkovich) H gemäß folgender Gleichung umgerechnet:^[90]

$$HV_{0,01}/\text{kg mm}^{-2}=92,65 \text{ s}^2 \text{ m}^{-1} \cdot H/\text{GPa} .$$

Vickers Mikrohärteprüfungen und Nanoindentationsexperimente wurden auch an einem geologischen Fluorapatit-Kristall durchgeführt. Dieser wurde wie die Zähne eingebettet, geschliffen und poliert. Indentationen wurden an den hexagonalen Stirnflächen (parallel zu [001]) und den Seitenflächen des geologischen Fluorapatit-Kristalls (parallel zu [100]) durchgeführt.

Die weiterführenden Experimente zur Untersuchung der Mikrostruktur und der lokalen mechanischen Eigenschaften des Enameloids von Zähnen von *I. oxyrinchus* wurden mittels Rasterelektronenmikroskopie (Zeiss Crossbeam XB1560 FIB-SEM), energiedispersiver Röntgenspektroskopie (Apollo XL Silicon Drift Detector; EDAX) und Nanoindentation (Hysitron TriboIndenter) durchgeführt.^[77] Zur Herstellung der Bruchproben wurde zuerst mithilfe einer Säge ein kleiner Spalt in die Zähne gesägt. Anschließend wurden durch vorsichtige Schläge mit einem Hammer Zahnsplinter erhalten, die dann mittels Rasterelektronenmikroskopie analysiert wurden. Zur Analyse der organischen Matrix innerhalb des Enameloids wurden ausgewählte Zahnbruchstücke oberflächlich demineralisiert. Hierzu wurden diese in eine EDTA-Lösung (0,1 mol L⁻¹; Waldeck) mit 2,5 % Glutaraldehyd (Merck) für 2 min gelegt. Die Proben wurden dann erst mit Wasser und anschließend mit Methanol gewaschen. Die Trocknung der Proben erfolgte durch eine aufsteigende Aceton-Reihe (30-50-70-90-100 Vol% Aceton; jeweils 5 min) gefolgt von einer Kritisch-Punkt-Trocknung (Bal-Tec CPD 030). Die unbehandelten und demineralisierten Zahnproben wurden dann mittels Rasterelektronenmikroskopie analysiert. Vier unterschiedliche Zähne wurden für die Nanoindentationsexperimente und für die Analysen mittels energiedispersiver Röntgenspektroskopie mit einer Säge durchtrennt. Zwei Zähne wurden axial gesägt, in ein Phenolharz eingebettet sowie geschliffen und poliert (siehe Kapitel 4.1.1). Die zwei übrigen Zähne wurden

orthogonal durchtrennt. Diese wurden dann in einem UV-härtbarem Harz (CEM 4000 Lightfix, Cloeren Technology GmbH, Wegberg) eingebettet. Die Aushärtung erfolgte dann mithilfe von UV-Licht. Anschließend wurden diese Proben geschliffen und poliert (siehe Kapitel 4.1.1).

An den zwei axial polierten Proben wurden 2575 Indentationen durchgeführt (d.h. im *shiny layer* und Enameloid). Der Abstand zwischen den Indentationen betrug 1 μm bei der ersten und 2 μm bei der zweiten Probe. An den zwei orthogonal polierten Proben wurden insgesamt 435 Indentationen durchgeführt. Der Abstand zwischen den Indentationen betrug 2 μm . Nach den Indentationen wurden die Proben mittels Rasterelektronenmikroskopie analysiert, um die einzelnen Indentationen den unterschiedlichen Strukturen innerhalb der Zähne zuordnen zu können (d.h. *shiny layer* und den unterschiedlich orientierten Kristallitbündeln).

4.1.2 Fossile Haifischzähne

Fossile Haifischzähne der ausgestorbenen Spezies *Carcharocles megalodon* und *Otodus obliquus* wurden aus kommerziellen Quellen bezogen. Für die Mikrostrukturuntersuchungen mittels Rasterelektronenmikroskopie wurden Zahnbruchstücke von *C. megalodon* untersucht, die vom Naturhistorischem Museum Wien zur Verfügung gestellt wurden. Bei diesen Bruchstücken liegen genaue Herkunftsinformationen vor: Die Fundstelle war Höch, südwestlich Passau, Niederbayern. Das Alter der Zahnbruchstücke beträgt ca. 18 Millionen Jahre. Sie waren im Naturhistorischem Museum Wien inventarisiert (NHMW 1990/1487/0310).

Die fossilen Haifischzähne wurden mittels Rasterelektronenmikroskopie, Atomabsorptionsspektroskopie (Ca^{2+} , Mg^{2+} , Na^{+}), UV-Spektroskopie (PO_4^{3-}), Ionen-selektiver Potentiometrie (F^{-}), energiedispersiver Röntgenspektroskopie, Röntgenpulverdiffraktometrie und IR-Spektroskopie in analoger Weise zu den rezenten Haifischzähnen untersucht (siehe Kapitel 4.1.1).

4.1.3 Krokodilzähne

Für die Analysen wurden Zähne von *Crocodylus porosus* (Leistenkrokodil) verwendet, die aus kommerziellen Quellen bezogen wurden. Die Zähne wurden in trockenem Zustand geliefert und gelagert.

Zur Untersuchung der Zahn-Mikrostrukturen wurden Bruchproben der Zähne mittels Rasterelektronenmikroskopie untersucht (Zeiss Gemini). Um die Mikrostrukturen innerhalb der Zähne detaillierter untersuchen zu können, wurden ausgewählte Proben mithilfe einer EDTA-Lösung (0,15 M und 2,5 % Glutaraldehyd für 20 min) demineralisiert.

Für die chemischen Analysen wurde von fünf Zähnen ein feines Pulver von Dentin, Enamel und Wurzelzement abgetragen. Die Probenvorbereitung und die Analysen mittels IR-Spektroskopie, Röntgenpulverdiffraktometrie und Elementaranalytik wurden analog zur Analyse der rezenten Haifischzähne durchgeführt (s. Kapitel 4.1.1).

Die Analysen mittels Röntgenpulverdiffraktometrie wurden an einem Panalytical Empyrean Diffraktometer durchgeführt, das mit einem Ofen ausgestattet war (XRK 900, Anton Parr). Zusätzlich zu den Messungen bei Raumtemperatur, wurden auch Messungen bei höheren Temperaturen (750 °C) durchgeführt. Als Referenz wurde ein Röntgenpulverdiffraktogramm von reinem Hydroxylapatit aus einer Datenbank verwendet (#9-0432; *International Centre for Diffraction Data*; ICDD).

Für die Vickers-Mikrohärteprüfungen wurden die Zähne axial mit einer Säge getrennt. Die Proben wurden anschließend in einem UV-härtbarem Methylmethacrylat eingebettet (CEM 4000, Cloeren Technology GmbH, Wegberg). Die Aushärtung wurde in einer UV-Box (Struers) durchgeführt. Die Proben wurden anschließend geschliffen und poliert, wie in Kapitel 4.1.1 beschrieben.

Die Analyse der Zähne mittels Synchrotron-Mikrocomputertomographie wurde an der *Beamline ID19* des European Synchrotron Radiation Facility (ESRF) in

Grenoble, Frankreich, durchgeführt. Experimentelle Details zu dieser Beamline wurden von Weitkamp *et al.* beschrieben.^[98] Die 3D-Bilder und die virtuellen Schnitte durch den Zahn wurden mit der Software VGStudio MAX 2.1 durchgeführt. Die Grauwerte der Bilder wurden mithilfe der Software ImageJ 1.45s ausgewertet.^[99]

Weitere Details zu den mikrocomputertomographischen Messungen, die für die Reproduktion der Messungen notwendig sind, sind in der Publikation über die Analyse der Krokodilzähne in Enax *et al.* aufgeführt.^[76]

Die Vickers-Mikrohärte wurde von zwei Zähnen in vier unterschiedlichen Bereichen gemessen (Dentin, Enamel und Wurzelzement nahe der Krone bzw. nahe des Zahnendes). In jedem dieser Bereiche wurden 20 Indentationen durchgeführt. Die Messungen wurden unter den gleichen Bedingungen durchgeführt wie für die Untersuchung der rezenten Haifischzähne (siehe Kapitel 4.1.1).

4.1.5 Synthetische Fluorapatit- und Hydroxylapatit-Kristallite

Nach erfolgter Synthese (s. Kapitel 4.2), wurden die synthetischen Fluorapatit- und Hydroxylapatit-Kristallite umfassend charakterisiert. Erst nach der Charakterisierung wurden die Kristallite in die Komposite eingearbeitet.

Die Form und Länge der Kristallite wurde mittels Rasterelektronenmikroskopie untersucht (ESEM Quanta 400 FEG). Die Hydroxylapatit-Kristallite wurden zusätzlich mittels Transmissionselektronenmikroskopie untersucht (Philips CM 200 FEG).

Die Mineralphase der Kristallite wurde mittels Röntgenpulverdiffraktometrie analysiert (Bruker D8 Diffraktometer; Cu K α Strahlung, $\lambda=1,54$ Å). Als Probenhalter wurde ein Silicium-Einkristall verwendet. Die Bestimmung der Gitterparameter wurde mit der Bruker Software TOPAS 4.2 durchgeführt. Zusätzlich wurden von allen Proben IR-Spektren aufgenommen (Bruker Vertex 70 Spektrometer in KBr-Presslingen; Messbereich: 400-4000 cm⁻¹ und

Auflösung: 2 cm^{-1}). Calcium, Magnesium, Natrium und Zink wurde mittels Atomabsorptionsspektrometrie analysiert (Thermo Electron; M-Serie). Phosphat wurde als Phosphat-Molybdän-Komplex bestimmt (Varian; Cary 300) und Fluorid wurde durch die Analytischen Laboratorien GmbH, Lindlar, bestimmt (Ionen-selektive Elektrode; WTW, pH/ION 735). CHN-Elementaranalysen wurden durchgeführt, um den Anteil an organischen Eduktrückständen (EDTA-Ca-Na₂) zu quantifizieren (Euro Vector; Euro EA Elemental Analyzer).

4.1.6 Synthetische Komposite

Die Mikrostrukturen der synthetischen Komposite (Darstellung s. Kapitel 4.3) wurden mittels Rasterelektronenmikroskopie analysiert (ESEM Quanta 400 FEG). Hierzu wurden ausgewählte Komposite mechanisch mit zwei Zangen gebrochen und die resultierende Bruchfläche (Außen- und Innenbereich) wurde analysiert.

Der Anteil an Polymermatrix in den Kompositen wurde mittels Thermogravimetrie bestimmt (Netzsch STA 449 F3 Jupiter). Dafür wurden die Spitzen (Apatit/Polymer-Komposite) mechanisch von der überstehenden Polymermatrix getrennt.

Der Gehalt an noch freiem MMA wurde an zwei PMMA-Homopolymeren von der Firma Pergan GmbH, Bocholt, bestimmt. Dafür wurden zwei Homopolymere aus MMA einmal mit 1 Gew% 75 %igen DBPO (Merck; stabilisiert mit Wasser) und mit 1,5 Gew% 50 %igen DBPO (Pergan; stabilisiert mit Dicyclohexylphthalat) dargestellt. Die Bestimmung des freien MMAs erfolgte durch Extraktion mit Dichlormethan und anschließender gaschromatographischer Bestimmung in analoger Weise zur Bestimmung von monomeren Styrol in Reaktionsharzformstoffen (DIN 53394 Teil 2). Abweichend dazu wurde als Standard 1,4-Diethylbenzol verwendet.

Vickers-Mikrohärtetests wurden durchgeführt, um die mechanischen Eigenschaften der Komposite zu untersuchen. Dazu wurden die Proben

eingebettet (UV-härtbares Methylmethacrylat; CEM 4000, Cloeren Technology GmbH, Wegberg) und in analoger Weise zur Untersuchung der rezenten Haifischzähne (siehe Kapitel 4.1.1) geschliffen und poliert. Je zehn Indentationen wurden im Innenbereich des Komposits, im Außenbereich des Komposits und in der reinen Polymermatrix durchgeführt (Leco M-400-H1-Mikrohärtemessgerät). Um die chemische Beständigkeit der Komposite im Vergleich zu Haifischzähnen untersuchen zu können, wurden Korrosionsexperimente an synthetischen Kompositen an Anlehnung an eine Literaturvorschrift durchgeführt.^[8]

Zuerst wurde der pH-Wert einer wässrigen Lösung auf pH 3 mit dem Zusatz von Citronensäure eingestellt. Diese wurde auf einzelne Gefäße aufgeteilt und im Trockenschrank auf 37 °C erwärmt. In diese wurden einzelne Fluorapatit/Polymer-Komposite und die reine Polymermatrix als Vergleich (alle basierend auf Komposit **2**; s. Kapitel 43, Tabelle 5) für 2, 10, 30 und 60 min gelegt. Als Referenz wurde je ein Komposit und eine reine Polymermatrix für 60 min in destilliertes Wasser (pH 6) gelegt. Nach der angegebenen Zeit wurden die Proben mehrmals mit destilliertem Wasser abgespült, um die anhaftenden Säurereste zu entfernen, und dann bei Raumtemperatur getrocknet. Die Masse der Proben vor und nach der Behandlung wurde gemessen. Die Oberfläche der Proben nach der Korrosion wurde mittels Rasterelektronenmikroskopie untersucht (ESEM Quanta 400 FEG).

Als Referenzmaterial wurden zwei Haifischzähne der Spezies *I. oxyrinchus* untersucht. Hierzu wurde ein Zahn für 60 min in eine wässrige Lösung, deren pH-Wert auf 3 mit Citronensäure eingestellt wurde (37 °C), gelegt. Die Masse des Zahns vor und nach der Behandlung wurde bestimmt. Von einem weiteren Zahn wurde nur die Spitze für 60 min eingetaucht (pH 2), der übrige Teil des Zahns blieb ohne Kontakt zur Lösung. Die eingetauchten Bereiche wurden mit Wasser und Ethanol gewaschen und an Luft getrocknet. Anschließend wurden die angeätzten Zahnoberflächen ebenfalls mittels Rasterelektronenmikroskopie analysiert.

4.1.7 Mattierungsdispersionen

Bevor die Mattierungsdispersionen dargestellt wurden (siehe Kapitel 4.4), wurden die reinen Titandioxid-Partikel (Anataspigment, *Kronos 1171*) charakterisiert.

Die Form und Größe der Titandioxid-Partikel wurde mittels Rasterelektronenmikroskopie (ESEM Quanta 400 FEG) analysiert. Zusätzlich wurden die Titandioxid-Partikel mittels Röntgenpulverdiffraktometrie (Bruker D8 Diffraktometer) und energiedispersiver Röntgenspektroskopie untersucht (EDAX; Genesis 4000).

Nach der Darstellung der Mattierungsdispersion wurden diese auf unterschiedlichen Materialien aufgetragen. Der resultierende Mattierungsfilm wurde charakterisiert. Der Auftrag erfolgte durch das Eintauchen des Materials in die Mattierungsdispersion oder durch das Auftragen mit einem kleinen Pinsel. Anschließend wurde der Mattierungsfilm entweder an Luft oder mittels Druckluft getrocknet.

Als Modelloberflächen wurden Glasplättchen, Glaspipetten (jeweils auch beschichtet mit einem dünnen Gold-Film), Kälberzähne und Polymethylmethacrylat verwendet.

Die Mikrostruktur des Mattierungsfilms auf unterschiedlichen Materialoberflächen wurde mittels Rasterelektronenmikroskopie untersucht (ESEM Quanta 400 FEG). Ausgewählte Mattierungsdispersionen wurden chemisch auch mittels energiedispersiver Röntgenspektroskopie untersucht (EDAX; Genesis 4000). Der Anteil an organischen Bestandteilen in ausgewählten Mattierungsfilmen nach dem Trocknen bei Raumtemperatur wurde mittels Thermogravimetrie bestimmt (Netzsch STA 449 F3 Jupiter).

Erste klinische Untersuchungen wurden mithilfe einer Cerec Blue-cam der Firma Sirona in der Zahnarztpraxis von Herrn Kleemann in Dinslaken durchgeführt. Hierzu wurden die Zähne einer Testperson mit ausgewählten Mattierungsdispersionen mithilfe eines kleinen Pinsels mattiert, mit einem schwachen Druckluftstrom getrocknet und anschließend vermessen. Die Zähne,

die abgebildet werden sollten, wurden mit einem Kofferdam vom übrigen Mundraum abgeschirmt, sodass der Mattierungsauftrag nicht im Kontakt mit dem Speichel stand.

Die Biokompatibilität ausgewählter Mattierungsdispersionen wurde mittels MTT-Test an HeLa-Zellen untersucht.

HeLa-Zellen wurden in DMEM (*Dulbecco's Modified Eagle Medium*) mit 10 % FBS (*fetal bovine serum*) in Anwesenheit von Streptomycin und Penicillin bei 37 °C unter 5 %-iger CO₂-Atmosphäre kultiviert.

Für die Zelluntersuchungen wurden die jeweiligen Mattierungsdispersionen für jeweils 30 min, 1 h, 5 h und 24 h zusammen mit den Zellen unter Zellkulturbedingungen inkubiert. Danach wurde die Zellvitalität mittels MTT-Tests bestimmt.^[100] MTT (2-(4,5-Dimethyl-2-thiazolyl)-3,5-diphenyl-2H-tetrazoliumbromid; Sigma-Aldrich) wurde in PBS (*phosphate buffered saline*) (5 mg mL⁻¹) gelöst und mit dem Zellkulturmedium auf eine Konzentration von 1 mg mL⁻¹ verdünnt. Das Zellkulturmedium wurden entnommen und durch die 300 µL MTT-Lösung ersetzt. Anschließend wurden die Zellen für 1-2 h bei 37 °C unter 5 %-iger CO₂-Atmosphäre inkubiert. Anschließend wurden 300 µL Dimethylsulfoxid zu den Zellen gegeben. Nach 30 min Inkubation wurden 100 µL der Lösung entnommen und bei einer Wellenlänge von 570 nm photometrisch analysiert (Thermo Fisher Scientific). Zur Bestimmung der Zellvitalität wurde die Absorption der Zellen auf die der Kontrolle (unbehandelte Zellen) normalisiert. Die antimikrobiellen Eigenschaften wurden an *Escherichia coli* (DH5α) getestet. Die Bakterien und die Mattierungsdispersionen wurden in einem LB-Medium über Nacht bei 37 °C unter Schütteln kultiviert.

Als Negativkontrollen wurden Bakterien mit Wasser kultiviert. Als Positivkontrolle wurde eine Ampicillin-Lösung verwendet.

Nach der Inkubation mit den Mattierungsdispersionen war es aufgrund der Trübung durch das TiO₂ nicht bei allen Proben möglich, photometrische Untersuchungen durchzuführen. Um zu untersuchen, ob eine antibakterielle

Wirkung in diesen Proben vorhanden war, wurde ein Teil der Proben auf LB-Agar-Platten ausplattiert und über Nacht bei 37 °C kultiviert.

Die biologischen Tests wurden von Frau M.Sc. Chernousova durchgeführt.

4.2 Darstellung von Fluorapatit- und Hydroxylapatit-Kristalliten

Die Basis für die Komposite sollen synthetische Fluorapatit-Kristallite bilden. Als Referenz dazu wurden auch Hydroxylapatit-Kristallite verwendet.

Fluorapatit-Kristallite wurden nach einer Literaturvorschrift nach Chen *et al.* mittels Hydrothermalsynthesen dargestellt.^[64]

1,872 g EDTA-Ca-Na₂ (Sigma-Aldrich) wurden mit 0,414 g NaH₂PO₄·H₂O (J.T. Baker) in 18 mL destilliertem Wasser gemischt. Parallel dazu wurden 0,042 g NaF (J.T. Baker bzw. Sigma-Aldrich) in 2 mL Wasser gelöst und zu der Mischung gegeben. Die finale Lösung wurden kräftig gerührt und anschließend in einem Autoklaven (Parr Aufschlussbombe 4749; mit einem Teflongefäß, siehe Abbildung 3) bei 120 °C im Trockenschrank für 16 h gelagert.



Abbildung 3: Ein für die Hydrothermalsynthesen von Fluorapatit und Hydroxylapatit verwendeter Autoklav (Parr Aufschlussbombe 4749, V=23 mL; links) mit Teflongefäß (rechts). Das Teflongefäß wird mit den Edukten gefüllt und verschlossen in den Autoklaven gestellt.

Nach der Reaktion und dem Abkühlen der Autoklaven auf Raumtemperatur wurden die finalen Suspensionen zentrifugiert und dreimal mit destilliertem Wasser gewaschen. Basierend auf dieser Synthese, wurden auch unterschiedliche Variationen durchgeführt. Als Additive wurden die sauren Aminosäuren Asparaginsäure und Glutaminsäure (jeweils Sigma-Aldrich) sowie MgCl_2 (Roth), NaCl (VWR) und ZnCl_2 (Roth) verwendet. Auch die Reaktionszeiten wurden variiert (Tabelle 3).

Die Synthese von Fluorapatit auf Eisen-Substraten erfolge nach Chen *et al.*^[64] Wie oben beschrieben, wurde eine Lösung aus EDTA-Ca- Na_2 , $\text{NaH}_2\text{PO}_4 \cdot \text{H}_2\text{O}$ und NaF vorbereitet. Diese wurde in einen Autoklaven überführt und ein Eisenstück (Sigma-Aldrich) wurde hinzugegeben. Der Autoklav wurde für 16 h bei 120 °C im Trockenschrank gelagert. Anschließend wurde das Eisenstück dreimal mit destilliertem Wasser gewaschen und an Luft getrocknet.

Die Synthese der synthetischen Fluorapatit-Bündel erfolgte nach Wu *et al.*^[65] 2,81 g EDTA-Ca- Na_2 , 1,71 g $\text{Na}_3\text{PO}_4 \cdot 12 \text{H}_2\text{O}$, 0,063 g und jeweils 1,44 g, 2,88 g, 4,32 g, 5,76 g oder 8,64 g Citronensäure wurden in 30 mL destilliertem Wasser gelöst. Die Lösung wurde gerührt und der pH-Wert wurde mit HNO_3 (Applichem) bzw. NaOH (VWR) auf pH 6 eingestellt. Die entstehenden Lösungen wurden für 24 h bei 120 °C im Trockenschrank gelagert. Die erhaltene Suspension wurde dreimal mit Wasser gewaschen.

Hydroxylapatit wurde hydrothermal nach Earl *et al.* dargestellt.^[67] Dafür wurden jeweils 11,807 g $\text{Ca}(\text{NO}_3)_2 \cdot 4 \text{H}_2\text{O}$ (Sigma-Aldrich) und 6,603 g $(\text{NH}_4)_2\text{HPO}_4$ (Sigma-Aldrich) in 50 mL destilliertem Wasser gelöst. Anschließend wurden diese Lösungen 1:10 verdünnt. Im Weiteren wurden nur noch die verdünnten Lösungen verwendet. Zu 16,7 mL $\text{Ca}(\text{NO}_3)_2 \cdot 4 \text{H}_2\text{O}$ -Lösung wurden langsam 10 mL der $(\text{NH}_4)_2\text{HPO}_4$ -Lösung getropft. Die finale Lösung wurde in einem Autoklaven für 24 h bei 200 °C gelagert. Nach dem Abkühlen der Autoklaven auf Raumtemperatur wurde die abfiltrierte Suspension dreimal mit destilliertem Wasser gewaschen. Die gewaschenen und getrockneten Fluorapatit- und

Hydroxylapatit-Kristallite wurden als Ausgangsmaterial für die synthetischen Komposite verwendet.

Tabelle 3: Übersicht über die verwendeten Synthesevarianten für Fluorapatit- (FAP) und Hydroxylapatit- (HAP) Kristallite, die im Kapitel 5.4 präsentiert werden. Die Synthese der Apatite erfolgte nach Literaturvorschriften,^[64-65, 67] wobei Variationen zur Literatur (d.h. Reaktionszeiten, Eduktkonzentrationen, Zusatz von Additiven) mit einem Sternchen (*) gekennzeichnet sind.

Name	Synthese nach	Eduktkonzentration	Additiv	Zeit
FAP-Stäbchen _{2 µm} (1)	Chen <i>et al.</i> ^[64] *	Vierfach höher	--	8 h
FAP-Stäbchen _{20 µm} (2)	Chen <i>et al.</i> ^[64]	Wie in Literatur	---	16 h
FAP-Stäbchen _{Asp} (3)	Chen <i>et al.</i> ^[64] *	Wie in Literatur	0,0066 g Asparaginsäure	16 h
FAP-Stäbchen _{Glu} (4)	Chen <i>et al.</i> ^[64] *	Wie in Literatur	0,0735 g Glutaminsäure	16 h
FAP-Stäbchen _{MgCl₂} (5)	Chen <i>et al.</i> ^[64] *	Wie in Literatur	0,0095 g MgCl ₂	16 h
FAP-Bündel (6)	Wu <i>et al.</i> ^[65]	Wie in Literatur	2,8800 g Citronensäure	24 h
FAP-Stäbchen _{NaCl} (7)	Chen <i>et al.</i> ^[64] *	Wie in Literatur	0,0292 g NaCl	16 h
FAP-Stäbchen _{ZnCl₂} (8)	Chen <i>et al.</i> ^[64] *	Wie in Literatur	0,0136 g ZnCl	16 h
HAP (9)	Earl <i>et al.</i> ^[67]	Wie in Literatur	---	24 h
FAP-Stäbchen _{20 µm} (10)	Chen <i>et al.</i> ^[64] *	Wie in Literatur	---	24 h
FAP-Stäbchen _{20 µm} (11)	Chen <i>et al.</i> ^[64] *	Wie in Literatur	---	48 h
FAP-Stäbchen _{20 µm} (12)	Chen <i>et al.</i> ^[64] *	Wie in Literatur	---	72 h

Um die Fluorapatit-Kristallite später kovalent an die Polymermatrix binden zu können, wurden die Fluorapatit-Kristallite in einem Experiment mit einer dünnen Silicaschicht umhüllt.^[101] Dazu wurden 80 mg Fluorapatit (**1**, s. Tabelle 3) in einem Wasser/Ethanol-Gemisch (20 mL/80 mL) dispergiert und 0,5 mL Tetraethylorthosilicat (TEOS) zugegeben. Der pH-Wert wurde mit einer 30 %-igen NH_3 -Lösung basisch eingestellt (pH 9). Der Ansatz wurde über Nacht gerührt, anschließend zentrifugiert, mit Wasser gewaschen und im Trockenschrank bei 40 °C getrocknet.

4.3 Darstellung von Fluorapatit/Polymer-Kompositen

Zusätzlich zu der im voranstehenden Kapitel dargestellten Mineralphase wird für die synthetische Komposite eine Polymermatrix benötigt.

Zur Darstellung der Polymermatrix in den synthetischen Kompositen wurden unterschiedlich funktionalisierte Methacrylat-Monomere verwendet, die überwiegend von Evonik Industries, Darmstadt, zur Verfügung gestellt wurden (Tabelle 4).

Tabelle 4: Übersicht über die für die Darstellung der Polymermatrix eingesetzten Methacrylat-Monomere mit der entsprechenden Abkürzung (nach Evonik Industries) und ihren Eigenschaften. Mit Ausnahme der "Bowen-Verbindung" (Sigma-Aldrich) wurden alle Monomere von Evonik Industries erhalten.

Name	Abkürzung (Evonik)	Eigenschaft
Methylmethacrylat	MMA	Basis-Monomer
Diurethandimethacrylat	HEMATMDI	Vernetzer
Ethylenglycoldimethacrylat	EGDMA	Vernetzer
Bisphenol A-glycerolat-dimethacrylat	"Bowen-Verbindung"	Sperriges Monomer/ Vernetzer
Trimethylolpropantrimethacrylat	TMPTMA	Vernetzer
Methacrylsäure	GMAA	Polares Monomer
2-Hydroxyethylmethacrylat	HEMA	Polares Monomer
N-(2-Methacryloyloxyethyl)ethylen-Harnstoff	MEEU 25 M	Polares Monomer
Methacryloyloxyethylphosphat	HEMA-Phosphat	Polares Monomer
3-Methacryloxypropyltrimethoxysilan	MEMO	Polares Monomer
Isobornylmethacrylat	IBOMA	Sperriges Monomer

Zur Darstellung der Komposite wurden zuerst Fluorapatit und Hydroxylapatit dargestellt und umfassend charakterisiert (siehe Kapitel 4.2).

Anschließend wurde jeweils eine Comonomermischung hergestellt (Tabelle 5). Als Radikalstarter wurde Dibenzoylperoxid (75 %ig DBPO, stabilisiert mit Wasser; Merck) verwendet, das zu der Comonomermischung gegeben wurde. Diese Mischung wurde kräftig geschüttelt, um eine homogene Durchmischung der Monomere sicherzustellen. Zudem wurde ein wasserfreies Dibenzoylperoxid

verwendet (50 %ig DBPO, stabilisiert mit Dicyclohexylphthalat; Pergan). Dann wurden ca. 1 mL der jeweiligen Monomermischung in ein 1,5 mL Eppendorfgefäß gegeben und ca. 40-80 mg Fluorapatit bzw. Hydroxylapatit hinzugegeben. Zu einigen Proben wurde auch bereits polymerisiertes Polymethylmethacrylat (PMMA) gegeben, um das Schrumpfen der Polymerphase zu minimieren. Dieses wurde in zwei unterschiedlichen Korngrößen verwendet (Evonik Degacryl M449, Korngröße 90-110 μm ; Evonik Degacryl M527, Korngröße 33-41 μm).^[102]

Die Mischung wurde kräftig geschüttelt, um das Mineral mit der Comonomermischung zu benetzen. Das Eppendorfgefäß, welches Fluorapatit bzw. Hydroxylapatit und die flüssige Comonomermischung enthielt, wurde dann ultrazentrifugiert (20.000 U min⁻¹ für 20 min).

Dabei gab es zwei verschiedene Polymerisationsprotokolle. Zum einen wurden die Komposite nach der Ultrazentrifugation im Trockenschrank polymerisiert. Hierzu wurde das Komposit erst langsam für 2-3 Tage bei 40 °C polymerisiert. Danach erfolgte eine Erhöhung der Temperatur bis zu 100 °C, um einen niedrigen Restmonomergehalt in der Polymermatrix zu erzielen.

Zum anderen wurden die Komposite während der Ultrazentrifugation bei Raumtemperatur zu polymerisiert. Dafür wurde neben dem Dibenzoylperoxid das tertiäre Amin N,N-Dimethyl-p-toluidin (Sigma-Aldrich) verwendet.^[11] Anschließend wurden auch diese Komposite bei ca. 100 °C im Trockenschrank gelagert, um die Polymerisation möglichst vollständig ablaufen zu lassen.

Tabelle 5: Zusammensetzung der Apatit/Polymer-Komposite, die in dieser Arbeit vorgestellt werden. Die Anteile der einzelnen Monomere in der Comonomermischung sind in Gew% angegeben (FAP: Fluorapatit; HAP: Hydroxylapatit; DBPO: Dibenzoylperoxid). Als Amin wurde N,N-Dimethyl-p-toluidin gewählt. Für die Bedeutung der Abkürzungen der Monomere, s. Tabelle 4. Für Komposit **16** wurde Dibenzoylperoxid verwendet, das nicht mit Wasser, sondern mit Dicyclohexylphthalat stabilisiert wurde; gekennzeichnet mit einem Sternchen (*).

Nr.	Mineral	Comonomermischung
1	FAP _{20 µm}	96 % MMA, 2 % EGDMA, 1 % GMAA, 1 % DBPO
2	FAP _{2 µm}	96 % MMA, 2 % EGDMA, 1 % GMAA, 1 % DBPO
3	FAP _{2 µm}	91 % MMA, 2 % EGDMA, 1 % GMAA, 5 % PMMA _{100 µm} , 1 % DBPO
4	FAP _{2 µm}	95% MMA, 2% EGDMA, 1 % GMAA, 1 % PMMA _{35 µm} , 1 % DBPO
5	FAP _{2 µm}	87 % MMA, 2 % EGDMA, 10 % HEMA, 1 % DBPO
6	FAP ^{„Bündel“}	96 % MMA, 2 % EGDMA, 1 % GMAA, 1 % DBPO
7	FAP _{2 µm}	96,5 % MMA, 2 % EGDMA, 0,5 % HEMA-Phosphat, 1 % DBPO
8	FAP _{2 µm}	94 % MMA, 2 % EGDMA, 3 % MEMO, 1 % DBPO
9	FAP _{2 µm}	48 % MMA, 2 % EGDMA, 48 % IBOMA, 1 % GMAA, 1 % DBPO
10	FAP _{2 µm}	94 % MMA, 2 % EGDMA, 1 % GMAA, 1 % Amin, 2 % DBPO
11	FAP _{20 µm}	85 % MMA, 2 % EGDMA, 10 % HEMA, 1 % Amin, , 2 % DBPO
12	HAP	94 % MMA, 2 % EGDMA, 1 % GMAA, 1 % Amin, 2 % DBPO
13	FAP _{20 µm}	92 % MMA, 2 % EGDMA, 3 % MEMO, 1 % Amin, 2 % DBPO
14	FAP _{20 µm}	36 % MMA, 2 % EGDMA, 1 % GMAA, 60 % Bowen-Verbindung, 1 % DBPO
15	FAP _{2 µm}	96 % MMA, 2 % TMPTMA, 1 % GMAA, 1 % DBPO
16	FAP _{2 µm}	94 % MMA, 2 % EGDMA, 1 % GMAA, 3 % DBPO*
17	FAP _{2 µm}	96 % MMA, 2 % HEMATMDI, 1 % GMAA, 1 % DBPO
18	FAP _{2 µm}	2 % EGDMA, 97 % MEEU25M, 1 % DBPO
19	FAP _{2 µm-Silica}	94 % MMA, 2 % EGDMA, 3 % MEMO, 1 % DBPO

Zur Darstellung von Kompositen auf Eisen-Substraten, wurde Fluorapatit zuerst auf Eisen kristallisiert (s. Kapitel 4.2). Anschließend wurde es in einem 1,5 mL Eppendorfgefäß mit der Comonomermischung **1** (s. Tabelle 5) übergossen und anschließend im Trockenschrank, wie oben beschrieben, polymerisiert.

Nach der Polymerisation im Trockenschrank, wurden die Komposite bei Raumtemperatur gelagert.

4.4 Darstellung von wässrigen Mattierungsdispersionen

Um eine mattierende Schicht auf unterschiedlichen Oberflächen aufzubringen, ist ein Haftmittel erforderlich. In dieser Arbeit wurden gute Ergebnisse mit Stärkekleister und Polyvinylpyrrolidon als Haftmittel erhalten.

Die Darstellung des Stärkekleisters wurde in Anlehnung an eine Literaturvorschrift durchgeführt.^[103] Im Folgenden wird die Durchführung beschrieben, mit der gute Ergebnisse erzielt wurden.

Zunächst wurden 15-16 g Kartoffelstärke (Sigma-Aldrich) mit 10 mL kaltem, destillierten Wasser versetzt. Diese Mischung wurde anschließend mit 120 mL destilliertem Wasser vermischt, das eine Temperatur von 100 °C hatte. Es erfolgte dann eine Verkleisterung über eine Quellzeit von 30 Minuten bei ca. 80 °C, sodass sich ein Stärkekleister bildete. Der resultierende Stärkekleister wurde mindestens 24 h bei Raumtemperatur gelagert. Nach der genannten Zeit wurde der Stärkekleister aufgerührt und mit 4-5 g Titandioxid (Anataspigment; Kronos 1171) je 20 g Stärkekleister vermischt. Die Mengen an Stärke und Titandioxid wurden für die Experimente leicht variiert. Zudem wurde zu einigen Proben Glycerin (Sigma-Aldrich) zugesetzt.

Als weiteres Haftmittel zeigte Polyvinylpyrrolidon (Sigma-Aldrich; $M=40.000 \text{ g mol}^{-1}$) gute Ergebnisse. Hierzu wurde eine Dispersion aus Titandioxid (ca. 10 Gew%), Polyvinylpyrrolidon (35-40 Gew%) und Wasser (30-50 Gew%) angesetzt und gerührt. In einigen Proben wurde auch Ethanol (10-20 Gew%) zugesetzt.

Die exakten Zusammensetzungen der Mattierungsdispersionen mit Stärkekleister und Polyvinylpyrrolidon als Haftmittel sind jeweils bei den entsprechenden Ergebnissen angegeben (siehe Kapitel 5.5.2).

Zur Konservierung wurden jeweils folgenden Konservierungsmittel zu der auf Stärkekleister basierenden Mattierungsdispersion zugesetzt: 0,83 Gew% Benzalkoniumchlorid (Sigma-Aldrich), 0,83 Gew% Benzyloxymethanol (Preventol D2; Lanxess), 0,44 Gew% Methylparaben (Paratexin M; Sblack) und 0,44 Gew% Ethylparaben (Paratexin E; Sblack), 0,17 Gew% 3-Methyl-4-Chlorphenol (Preventol CMKPG; Lanxess) und 12,9 Gew% Chlorhexidin-Digluconat (MKS-Marken Kosmetik Service).

5. Ergebnisse und Diskussion

5.1 Charakterisierung von rezenten Haifischzähnen

5.1.1 Makroskopische Strukturen von Dentin und Enameloid

Die Zähne zweier rezenter Haifischspezies (*Isurus oxyrinchus*; Kurzflossen-Makohai und *Galeocerdo cuvier*; Tigerhai) und ein geologischer Fluorapatit-Kristall als Referenzmaterial wurden untersucht (Abbildung 4).

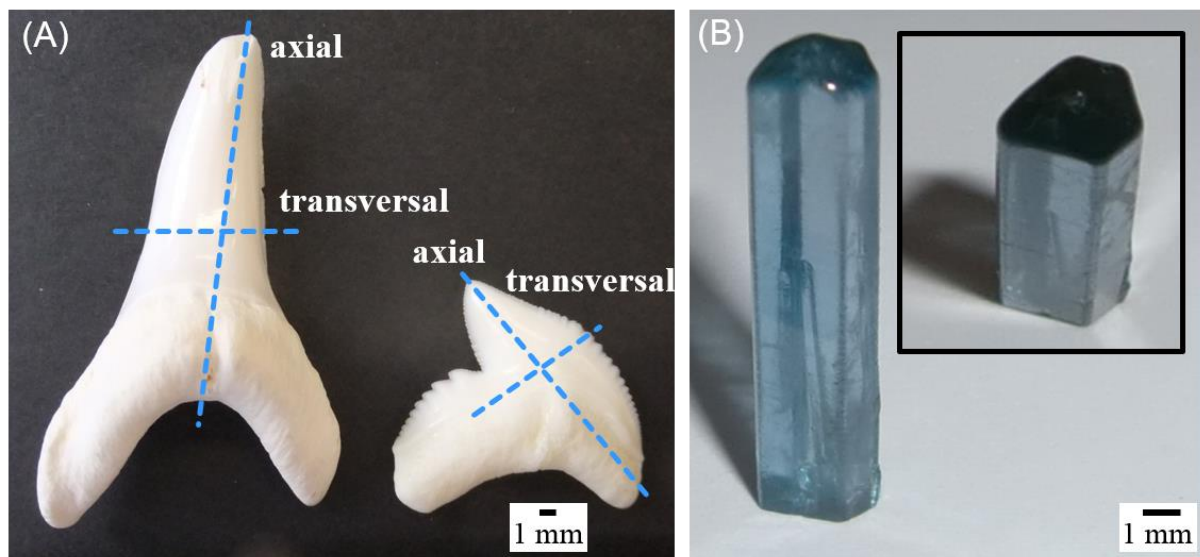


Abbildung 4: (A) Die verwendeten Haifischzähne mit einer Darstellung der durchgeführten Schnitte (links: *I. oxyrinchus*; rechts: *G. cuvier*). Die Zähne von *I. oxyrinchus* haben eine Dolch-ähnliche Form. Die Zähne von *G. cuvier* haben eine Sägeblatt-ähnliche Kaufläche. (B) Ein geologischer Fluorapatit-Kristall, der als Referenzmaterial untersucht wurde, mit einem Blick auf die Kopffläche des Kristalls.

Rasterelektronenmikroskopische Aufnahmen von geschliffen Schnitten zeigen, dass Dentin (innen) und Enameloid (außen) bei Zähnen beider Haifischspezies klar voneinander unterschieden werden können (Abbildungen 5 und 6). Am Dentin-Enameloid-Übergang sind die Fasern der organischen Matrix mit den Enameloid-Kristalliten verzahnt. Dies führt zu einem guten Zusammenhalt von Dentin und Enameloid. Der äußerste Teil des Enameloids bildet der *shiny layer*. Das Enameloid ist bei Zähnen von *I. oxyrinchus* dicker (ca. 300 µm) als bei

Zähnen von *G. cuvier* (ca. 200 μm). Dies kann mit den unterschiedlichen makroskopischen Größen der Zähne zusammenhängen (Abbildung 4).

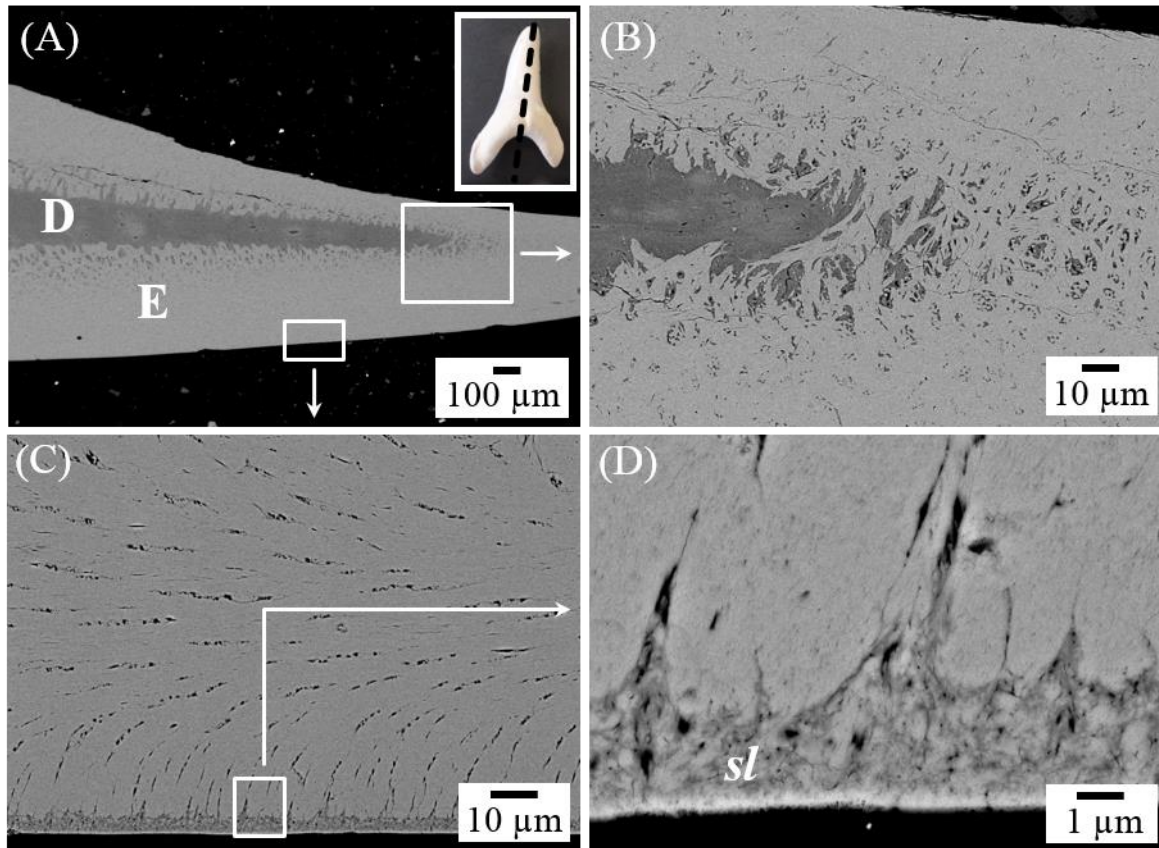


Abbildung 5: Rasterelektronenmikroskopische Aufnahmen (im Rückstreuelektronen-Modus) eines axialen Querschnitts eines Zahns von *I. oxyrinchus*. (A) Der Zahnquerschnitt in einer Übersicht zeigt Dentin (D; innen) und Enameloid (E; außen). (B) Der Dentin-Enameloid-Übergang in höherer Vergrößerung, wobei Dentin und Enameloid ineinander verzahnt sind. (C, D) Der Zahnaußenbereich besteht aus dem sogenannten *shiny layer* (sl), der den Zahn abschließt. Weiter innen liegen die Kristallitbündel.

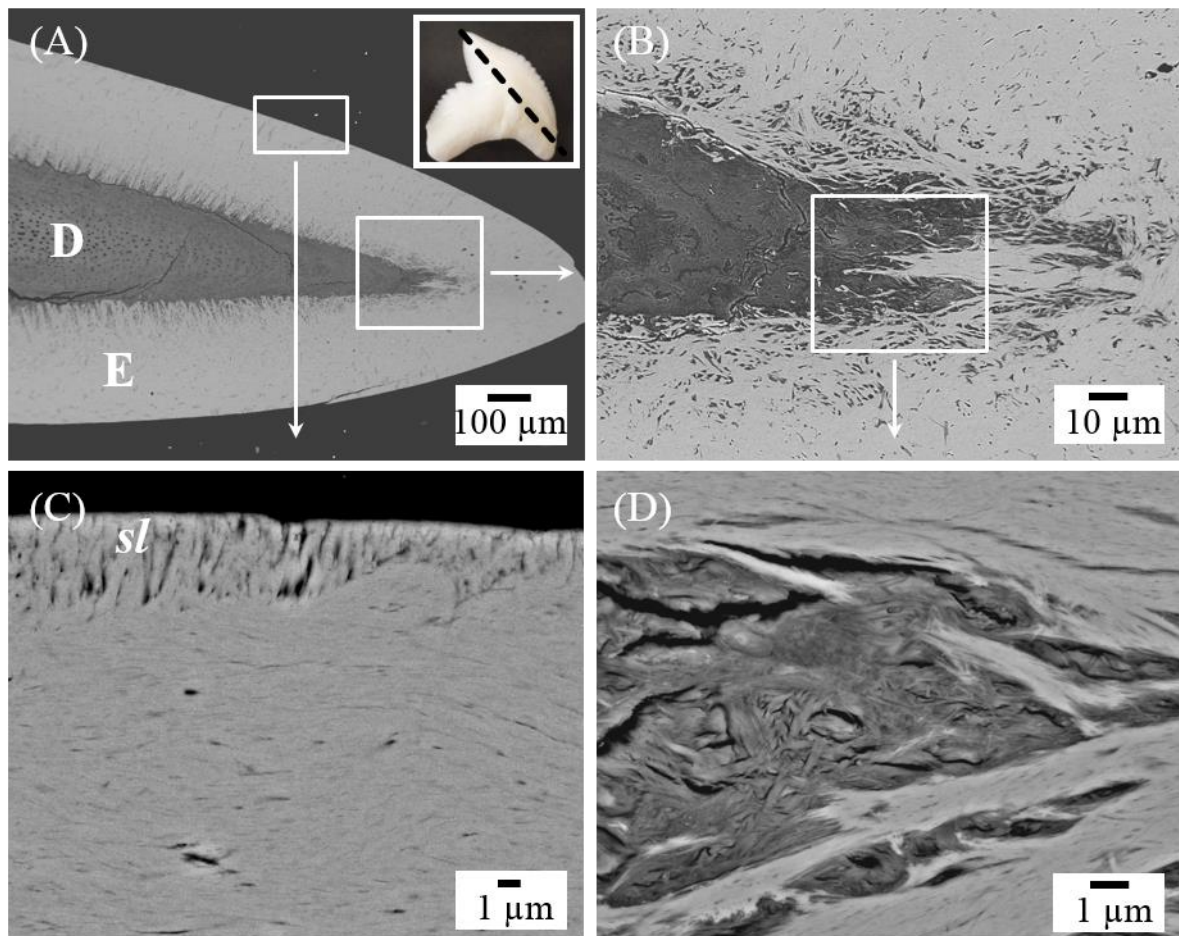


Abbildung 6: Rasterelektronenmikroskopische Aufnahmen (im Rückstreuelektronen-Modus) eines axialen Querschnitts eines Zahns von *G. cuvier*. (A) Übersicht über Dentin (D; innen) und Enameloid (E; außen). (B) Im Dentin-Enameloid-Übergang gibt es eine Verzahnung des Dentins mit dem Enameloid. (C) Die Vergrößerung der Zahnaußenfläche von (A) zeigt den *shiny layer* (sl). (D) Die Vergrößerung von (B) zeigt die Verzahnung von mineralischen Bestandteilen mit den organischen Fasern.

Zusätzlich zu den rasterelektronenmikroskopischen Aufnahmen wurden an einem Zahn von *I. oxyrinchus* auch Aufnahmen mittels Mikrocomputertomographie angefertigt (Abbildung 7). Diese bestätigen die rasterelektronenmikroskopischen Aufnahmen, die für Zähne von *I. oxyrinchus* erhalten wurden (Abbildung 5A,B). Besonders sichtbar ist der Dentin-Enameloid-Übergang. Hier gibt es eine innige

Verflechtung der organischen Matrix des Dentins mit den Kristalliten des Enameloids.

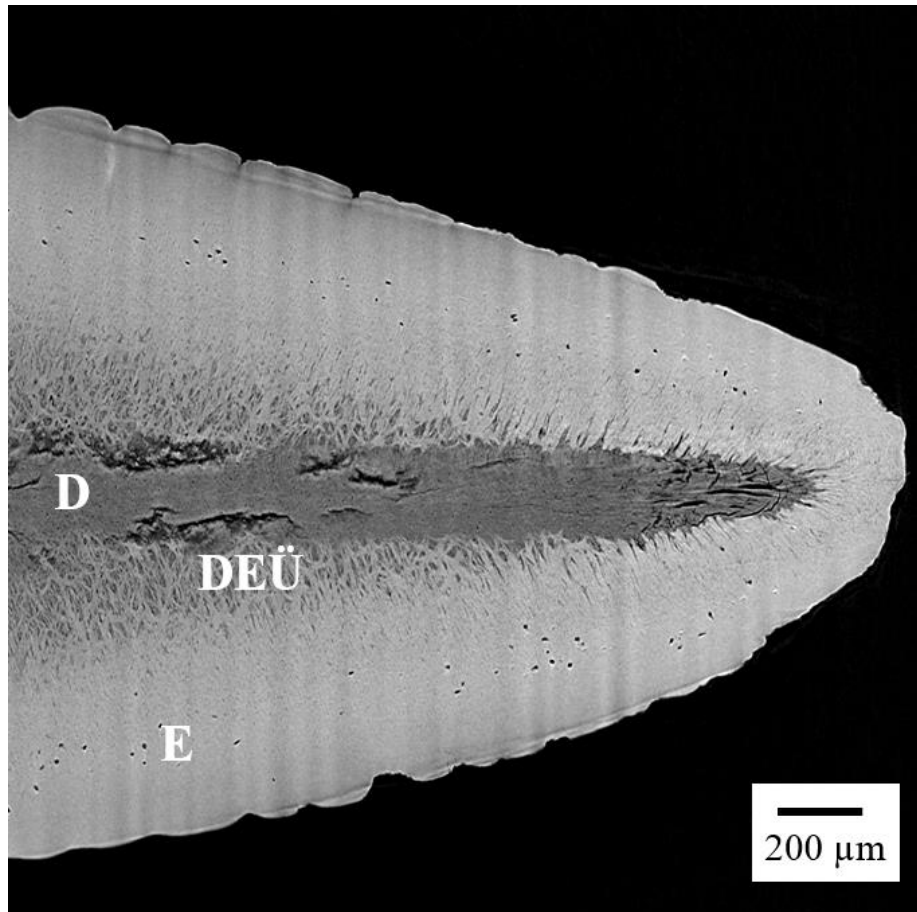


Abbildung 7: Die Abbildung, die mittels Mikrocomputertomographie erstellt wurde, zeigt eine Übersicht eines axialen Querschnitts eines Zahns von *I. oxyrinchus* mit der Verzahnung von Dentin und Enameloid (D: Dentin, E: Enameloid, DEÜ: Dentin-Enameloid-Übergang).

Rasterelektronenmikroskopische Aufnahmen von Bruchflächen des Enameloids von *I. oxyrinchus* zeigen, dass die Fluorapatit-Kristallite eine Länge von einigen Mikrometern haben und nicht als einzelne Kristallite vorliegen, sondern in Bündeln organisiert sind (Abbildung 8). Auf die Enameloid-Mikrostruktur wird in Kapitel 5.1.2 detailliert eingegangen.

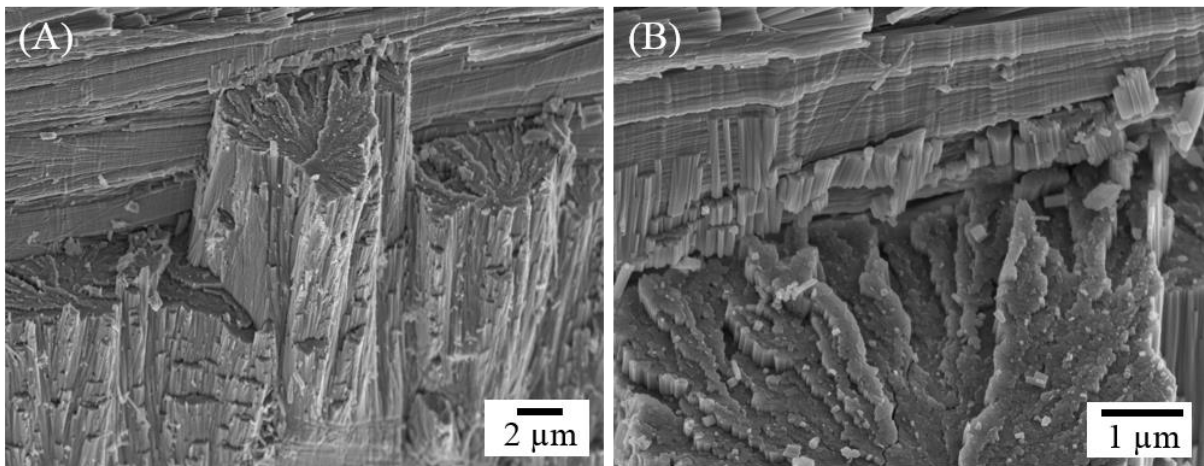


Abbildung 8: Rasterelektronenmikroskopische Aufnahmen der Enameloidstruktur von Bruchproben von Zähnen von *I. oxyrinchus*. (A) Das Enameloid besteht aus Fluorapatit-Kristalliten, die in Bündeln organisiert sind. (B) Die Vergrößerung eines Kristallitbündels aus (A) zeigt, dass die Kristallite sehr dicht aneinander geordnet sind. Einzelne Kristallite haben eine Länge von einigen Mikrometern und ihre Dicke liegt im Bereich von Nanometern.

Das Dentin von Zähnen von *I. oxyrinchus* und *G. cuvier* ist nicht mehr so regelmäßig angeordnet wie das Enameloid (Abbildungen 9). Hier liegen kleinere Fluorapatit-Nanokristallite vor, die zusammen mit einer organischen Matrix das Dentin bilden. Das Dentin von Zähnen von *I. oxyrinchus* besitzt Dentintubuli, deren Durchmesser ca. 40 µm betragen. Auch humanes Dentin besitzt Tubuli. Allerdings sind diese Tubuli deutlich kleiner als die von *I. oxyrinchus* (Durchmesser humaner Dentintubuli: ca. 2,4-3 µm).^[104]

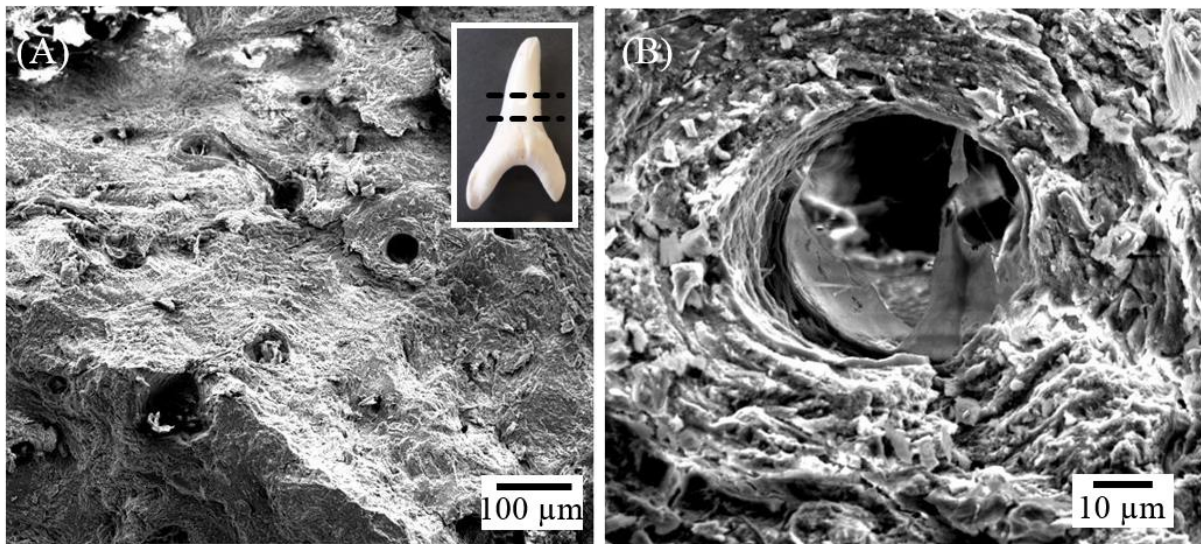


Abbildung 9: Rasterelektronenmikroskopische Aufnahmen eines transversalen Gefrierbruchs des Dentins eines Zahns von *I. oxyrinchus*. (A) Übersicht über das Dentin, das keine geordnete Struktur wie im Enameloid aufweist. Zusätzlich gibt es auch Hohlräume (Dentintubuli) innerhalb des Dentins. (B) Die Vergrößerung eines Dentintubulus aus (A) zeigt, dass diese eine rundliche Form mit einem Durchmesser von ca. 40 µm besitzen.

Die Dentitubuli von Zähnen von *G. cuvier* hingegen zeigen Dentintubuli, die von ihrem Durchmesser (ca. 2-5 µm) den Tubuli in humanem Dentin ähneln (Abbildung 10).

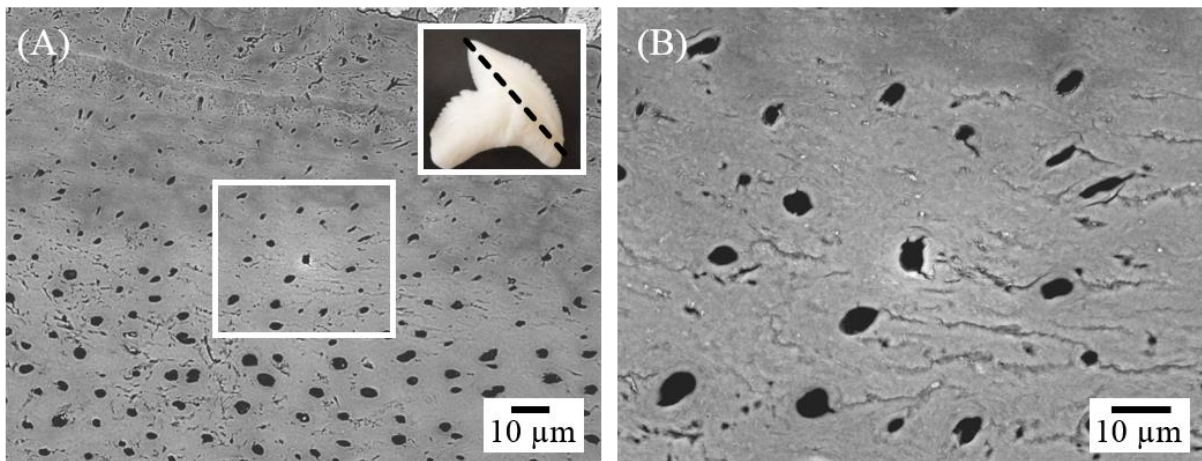


Abbildung 10: Rasterelektronenmikroskopische Aufnahmen (im Rückstreuelektronenmodus) eines axialen Querschnitts des Dentins eines Zahns von *G. cuvier*. (A) Übersicht über das Dentin mit den Dentintubuli. (B) Die Detailaufnahme von (A) zeigt, dass die Dentintubuli eine ovale Form besitzen und einen Durchmesser von ca. 2-5 µm haben.

5.1.2 Mikrostruktur des Enameloids

Die Mikrostruktur von Haifischzahn-Enameloid wurde am Beispiel von *I. oxyrinchus* analysiert.

Wie für andere rezente und fossile Haifischzähne beschrieben wurde, besteht das Enameloid von *I. oxyrinchus* aus einem äußeren *shiny layer* und darunter liegenden Kristallitbündeln.^[40, 105]

Die kleinste Struktureinheit, die mittels Rasterelektronenmikroskopie im Enameloid gefunden wurde, sind nadelförmige Fluorapatit-Kristallite (Abbildung 11). Diese Kristallite haben eine hexagonale Stirnfläche, die auf die Apatit-Struktur des Minerals zurückzuführen ist. Die Dicke der Fluorapatit-Kristallite beträgt ca. 50-80 nm, wobei sie gleichzeitig sehr lang sind ($> 1\ \mu\text{m}$) (Abbildung 11). Diese Dimensionen der Kristallite sind ähnlich zu denen, die Sasagawa in einer Studie mittels Transmissionselektronenmikroskopie an Haifischzahn-Enameloid ermittelte.^[45] Auch die Hydroxylapatit-Kristallite in humanem Enamel haben ähnliche Dimensionen wie die hier vorgestellten Fluorapatit-Kristallite von *I. oxyrinchus*.^[32] Die Fluorapatit-Kristallite im Enameloid liegen parallel

zueinander in Bündeln vor. Diese Kristallitbündel sind in unterschiedlichen Richtungen orientiert und können in drei Typen unterteilt werden (zum besseren Verständnis der Anordnung der Kristallitbündel im Enameloid siehe auch die schematische Darstellung in Abbildung 12).

Am häufigsten sind axiale Bündel ("3" in Abbildung 11). Diese sind parallel zur Längsachse des Zahns orientiert. Diese sind durchzogen von radialen Bündeln ("2" in Abbildung 11). Diese reichen vom Dentin-Enameloid-Übergang bis hin zum *shiny layer* ("sl" in Abbildung 11). Vor dem *shiny layer* liegen die umlaufenden Bündel ("1" in Abbildung 11). Insgesamt unterscheidet sich die Mikrostruktur von Haifischzahn-Enameloid deutlich von der in humanen Zähnen. Hier sind die Kristallitbündel ("Enamelprismen") alle senkrecht vom Dentin-Enameloid-Übergang zur Zahnaußenfläche orientiert.^[5, 32, 106]

Der äußerste Teil des Enameloids wird durch den ca. 5 µm dicken *shiny layer* gebildet. Im unbehandelten Zustand besteht dieser aus polyedrischen Kristalliten, die sich in ihrer Form deutlich von den Fluorapatit-Kristalliten in den Bündeln unterscheiden (Abbildung 11). Durch die Demineralisation mit EDTA sieht man aber, dass diese Kristallite des *shiny layers* aus Fluorapatit-Kristalliten aufgebaut sind, die ähnlich derer in den Bündeln sind. Der *shiny layer* wird in der Endphase der Enameloid-Reifung gebildet.^[45] Diese äußere Schicht könnte möglicherweise die Kristallitbündel vor mechanischen Schäden schützen, sodass die komplexe Mikrostruktur der Kristallitbündel auch bei mechanischer Beanspruchung intakt bleibt.

Auch in humanen Enamel gibt es eine äußere Schicht ("*prismless enamel*"), in den nadelförmige Hydroxylapatit-Kristallite parallel zueinander orientiert sind.^[107-108]

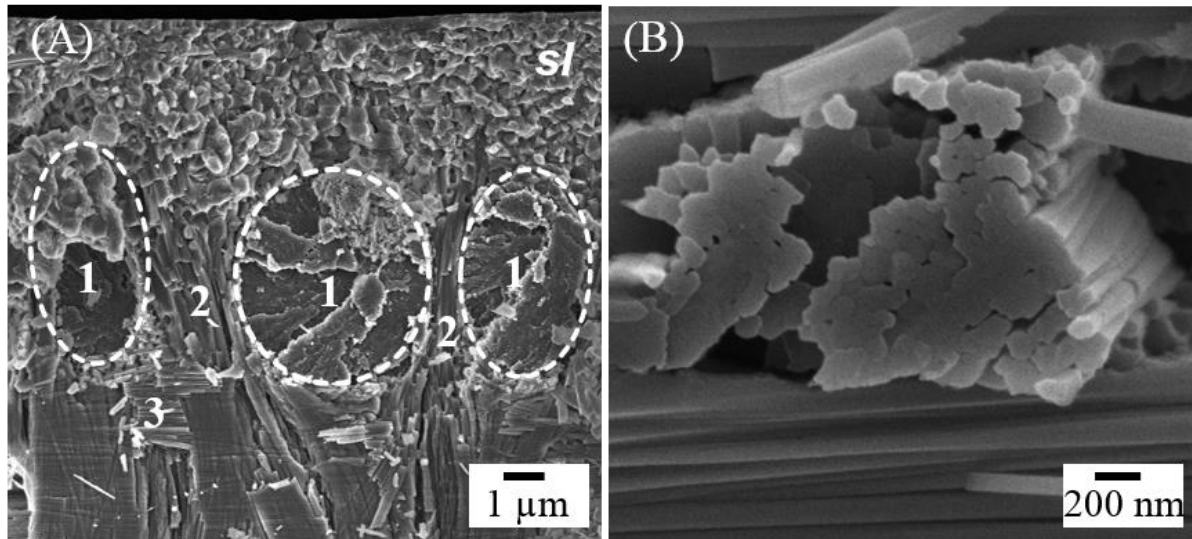


Abbildung 11: Rasterelektronenmikroskopische Aufnahmen der Enameloid-Mikrostruktur von Bruchproben von Zähnen von *I. oxyrinchus*: (A) Enameloid-Mikrostruktur mit der Anordnung der Kristallitbündel in unterschiedlichen Orientierungen und dem *shiny layer* (sl). (B) Einzelne nadelförmige Fluorapatit-Kristallite, die die Bündel formen. Die Kristallite haben eine annähernd hexagonale Stirnfläche und sind sehr dicht gepackt (1: Umlaufende Bündel; 2: Radiale Bündel; 3: Axiale Bündel).

Basierend auf den Strukturuntersuchungen mittels Rasterelektronenmikroskopie lässt sich die Enameloid-Mikrostruktur am Beispiel von Zähnen von *I. oxyrinchus* schematisch darstellen (Abbildung 12).

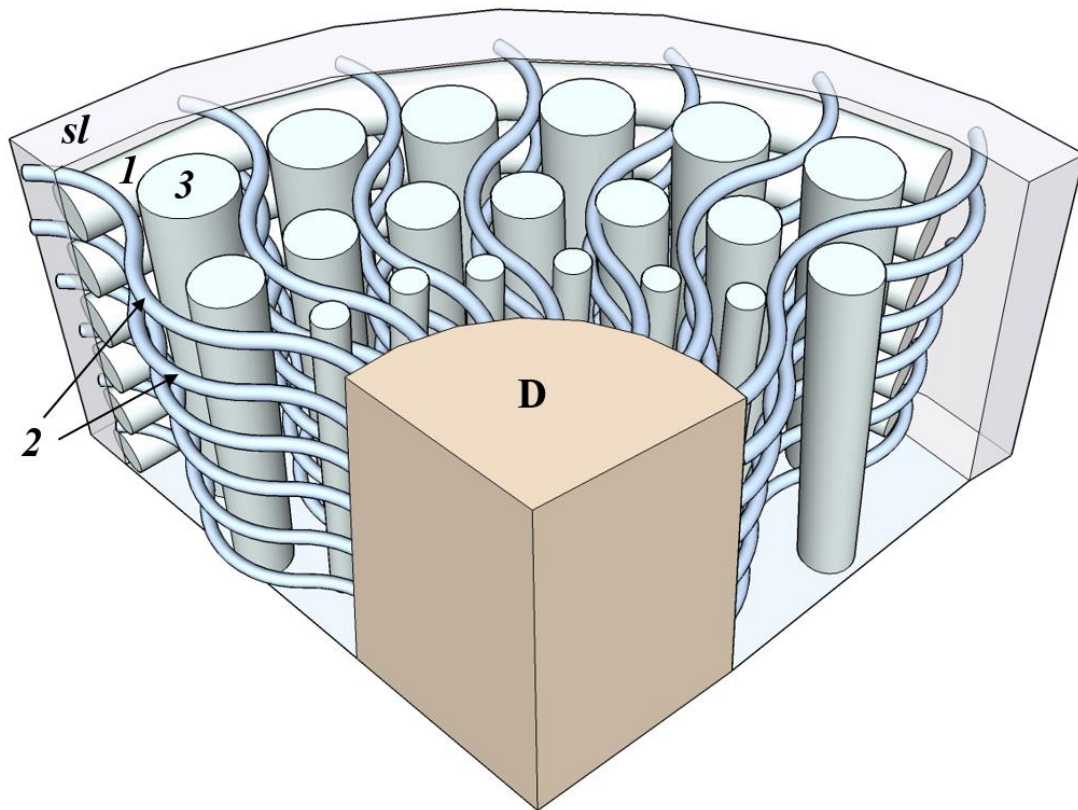


Abbildung 12: Schematische Darstellung der Enameloid-Mikrostruktur von Zähnen von *I. oxyrinchus* basierend auf den rasterelektronenmikroskopischen Untersuchungen des Enameloids. Den äußeren Teil des Enameloids bildet der *shiny layer* (sl). Darunter gibt es Kristallitbündel in unterschiedlichen Orientierungen (1: Umlaufende Bündel; 2: Radiale Bündel; 3: Axiale Bündel; D: Dentin). Anmerkung: Die Form und die Orientierung der Kristallitbündel sind hier vereinfacht wiedergegeben.

Das Enameloid von *I. oxyrinchus* enthält maximal 5 Gew% organische Matrix, was durch thermogravimetrische Analysen ermittelt wurde (Kapitel 5.1.4). In unbehandelten Zahnproben ist die Lokalisierung der organischen Matrix im Enameloid mittels Rasterelektronenmikroskopie sehr schwierig. Deshalb wurden auch Demineralisationsexperimente mit EDTA durchgeführt (Abbildung 13). Sichtbar wird die organische Matrix besonders in Bereichen, in denen sich zwei Kristallitbündel berühren. Hier sind die Bündel mit einer dünnen Schicht einer organischen Matrix bedeckt, und die Eindrücke des gegenüberliegenden Bündels

sind sichtbar. Zwischen einzelnen Fluorapatit-Kristalliten konnte mit den in dieser Arbeit verwendeten Analysemethoden keine organische Matrix gefunden werden. Dies wird durch aktuelle Arbeiten von Chen *et al.* bestätigt, die das Enameloid von Haifischzähnen mittels hochaufgelöster Transmissionselektronenmikroskopie analysierten. In den dort vorgestellten Aufnahmen sind die einzelnen Fluorapatit-Kristallite innerhalb des Enameloids sehr dicht gepackt, und zwischen den Fluorapatit-Kristalliten ist keine organische Matrix sichtbar.^[109]

Durch die Demineralisierung mit EDTA werden die hexagonalen Stirnflächen der Fluorapatit-Kristallite angelöst und die Stirnflächen werden rundlicher, wobei die Länge der Kristallite unverändert bleibt (Abbildung 13 C,D). Jedes Kristallitbündel, unabhängig von seiner jeweiligen Orientierung ist von einer organischen Matrix umhüllt (Abbildung 13, A-E). Auch um die Kristallitbündel in humanem Enamel gibt es eine dünne Schicht organischer Matrix, was von Ge *et al.* mittels Rasterkraftmikroskopie an angeätzten Enamel-Proben nachgewiesen wurde.^[110]

Die kleinsten organischen Bestandteile sind 20-30 nm dicke Filamente, die an den Kristallitbündeln haften (Abbildung 13 C). Auch im *shiny layer* wird durch die Demineralisation mit EDTA die organische Matrix sichtbar. Überdies entstehen im *shiny layer* Hohlräume (Abbildung 13 F).

Die Anwesenheit von organischer Matrix im Enameloid wurde mittels Rasterelektronenmikroskopie sowie durch Thermogravimetrie und IR-Spektroskopie nachgewiesen (siehe Kapitel 5.1.4). Eine detaillierte Charakterisierung der organischen Matrix wurde in dieser Arbeit allerdings nicht durchgeführt. Hierfür müssten die Proteine der organischen Matrix aus frischen Zähnen extrahiert werden und anschließend molekularbiologisch untersucht werden.^[111-113]

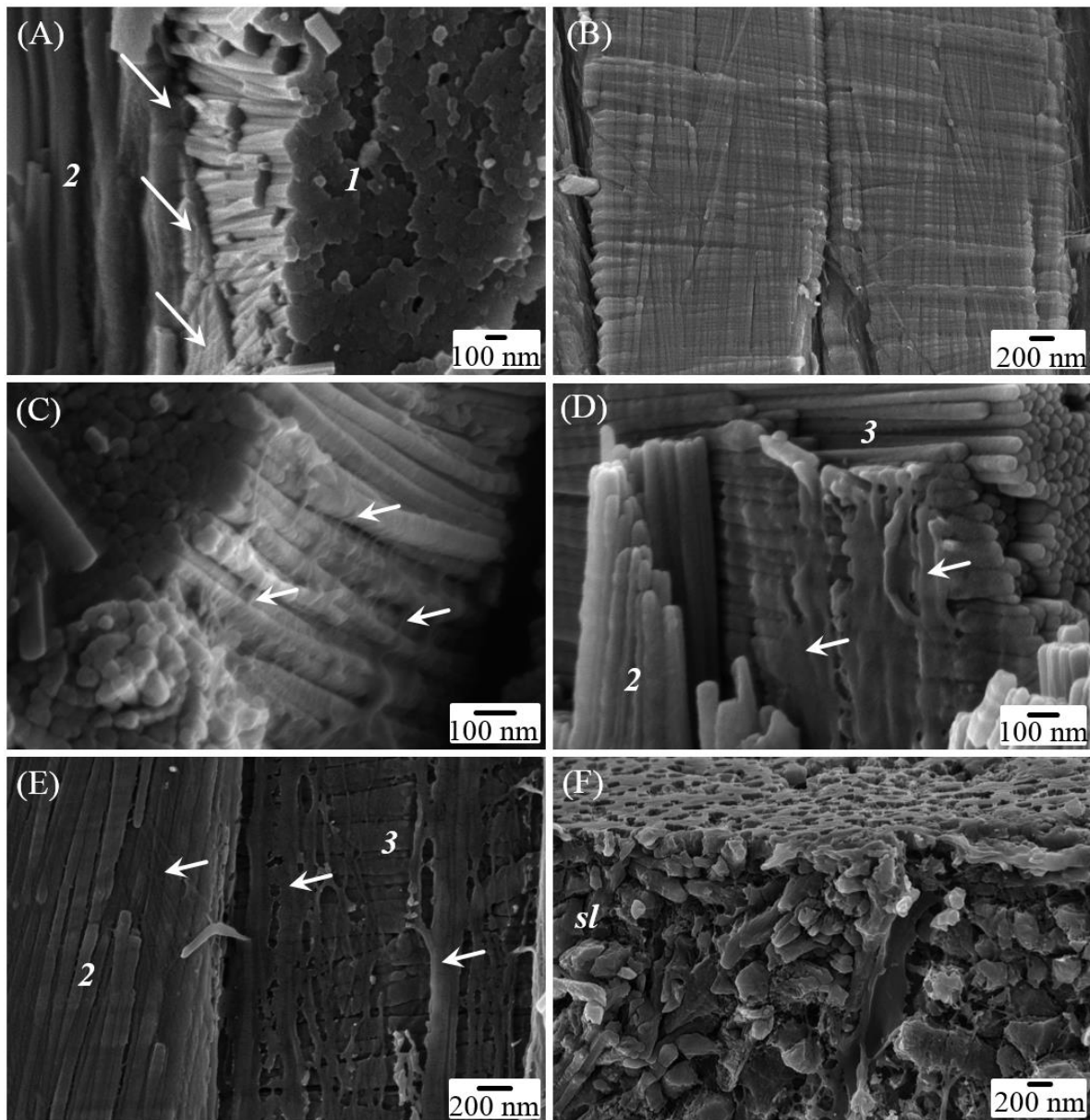


Abbildung 13: Rasterelektronenmikroskopische Untersuchungen der organischen Matrix innerhalb des Enameloids von Zähnen von *I. oxyrinchus*. (A) Übergangsbereich zwischen zwei unterschiedlich orientierten Kristallitbündeln. (B-F) Aufnahmen, die nach Demineralisation mit EDTA aufgenommen wurden. (B) Organische Matrix, die Eindrücke des benachbarten Kristallitbündels aufweist. (C) Kristallitbündel mit organischen Filamenten. (D, E) Unterschiedlich orientierte Kristallitbündel, die mit einer organischen Matrix umhüllt sind (Pfeile). (F) Organische Fasern des *shiny layers* zwischen den polyedrischen Mineral-Strukturen

(sl: *shiny layer*; 1: Umlaufende Bündel; 2: Radiale Bündel; 3: Axiale Bündel).

5.1.3 Strukturhierarchie von Haifischzähnen

Basierend auf den Strukturuntersuchungen des Enameloids (siehe Kapitel 5.1.2) wurde die Strukturhierarchie von Haifischzähnen am Beispiel von Zähnen von *I. oxyrinchus* definiert.

Basierend auf der Mineralphase lassen sich sechs hierarchische Level definieren (Abbildung 14, **1-6**). Die Organisation der organischen Matrix folgt der Strukturhierarchie der Mineralphase (Abbildung 14, **1*-6***). Die (formal) kleinste Struktureinheit ist die Fluorapatit-Elementarzelle (**1**). Darauf folgen die hexagonalen Fluorapatit-Kristallite mit einer durchschnittlichen Dicke von 50-80 nm und einer Länge von $> 1 \mu\text{m}$ (**2**). Die Fluorapatit-Kristallite liegen in dicht gepackten Bündeln vor (**3**), die jeweils mit einer dünnen Schicht einer organischen Matrix umhüllt sind (**3***). Unterschiedlich orientierte Bündel formen zusammenhängende Mikrostrukturen (**4**), die in den unterschiedlichen Gewebetypen vorkommen: *Shiny layer*, Enameloid und Dentin (**5**). Diese formen den gesamten, makroskopischen Zahn mit Spitze und Wurzel (**6**).

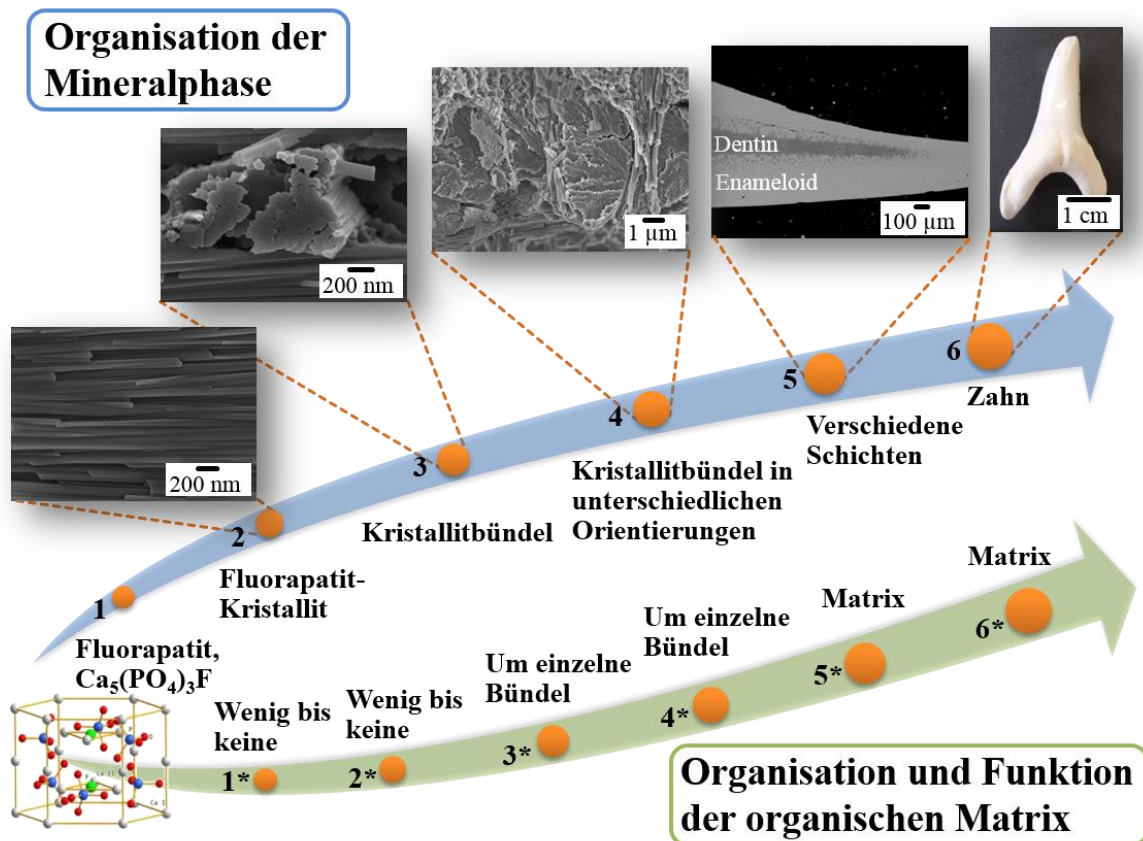


Abbildung 14: Strukturhierarchie von Haifischzähnen am Beispiel von Zähnen von *I. oxyrinchus*, basierend auf der Mineralphase (oben) und basierend auf der organischen Matrix (unten). Die Bilder (Level 2-5) zeigen rasterelektronenmikroskopische Aufnahmen auf der entsprechenden Längenskala. Insgesamt können basierend auf der Mineralphase sechs Strukturlevel definiert werden. Die Strukturlevel der organischen Matrix beziehen sich jeweils auf das Auftreten im jeweiligen Level der Mineralphase.

5.1.4 Chemische und kristallographische Zusammensetzung

Haifischzähne bestehen hauptsächlich aus Fluorapatit,^[41-42] was durch Elementaranalysen bestätigt wurde. Insgesamt ist der Anteil an Fluorapatit im Enameloid deutlich höher als im Dentin (Tabelle 6).

Tabelle 6: Chemische Zusammensetzung der Zähne (jeweils Dentin und Enameloid) von *I. oxyrinchus* und *G. cuvier* und eines geologischen Fluorapatit-Kristalls. Zum Vergleich ist die theoretische Zusammensetzung eines stöchiometrischen Fluorapatits angegeben. Alle Werte sind in Gew% angegeben.

	<i>I. oxyrinchus</i>	<i>G. cuvier</i>	Geologischer	Berechnet
	Dentin/ Enameloid	Dentin/ Enameloid	Fluorapatit- Kristall	für stöchiometri- schen Fluorapatit
Ca ²⁺	30,90/37,81	24,26/31,19	38,42	39,74
PO ₄ ³⁻	48,20/54,35	41,80/51,55	53,25	56,50
Ca/P molar	1,52:1/1,65:1	1,38:1/1,43:1	1,71:1	1,67:1
Na ⁺	1,14/1,03	1,35/0,99	0,18	0
Mg ²⁺	0,44/0,13	0,82/0,29	< 3·10 ⁻⁶	0
F ⁻	0,61/3,08	1,46/3,13	3,64	3,77

Der Fluoridgehalt im Enameloid ist mit ca. 3,1 Gew% fast so hoch wie der eines geologischen Fluorapatit-Kristalls (3,64 Gew%). Dieser hohe Fluoridanteil im Enameloid wurde auch in Arbeiten von Glas bestätigt.^[42] Im Dentin hingegen ist der Fluoridgehalt deutlich geringer als im Enameloid. Der nicht stöchiometrische Fluoridgehalt im Enameloid könnte auch durch die Probenpräparation zu begründen sein. Das Enameloid ist sehr dünn und somit könnten unter Umständen auch Teile des Dentins (wenig Fluorid) mit abgetrennt worden sein, was den Fluoridgehalt im Enameloid senkte.

Der hohe Fluoridanteil im Enameloid ist bemerkenswert, da der Anteil von Fluorid im Meerwasser nur ca. 1,3 ppm beträgt. Es wird deshalb angenommen, dass es einen Fluoridkonzentrationsmechanismus während der Bildung des Enameloids gibt.^[114]

In der aktuellen Literatur wurde von Chen *et al.* beschrieben, dass, basierend auf *ab-initio*-Berechnungen, Fluoridionen in Fluorapatit kovalent mit Calciumionen binden können und somit kovalente Ca-F Bindungen vorliegen.^[109] Dieses Ergebnis ist aufgrund der hohen Elektronegativitätsdifferenz zwischen Calcium (1,0; Ref.^[79]) und Fluor (3,98; Ref.^[79]) schwer vorstellbar. In einem Kommentar von Karttunen und Kraus zu dem Artikel von Chen *et al.*^[109] wird die Annahme einer kovalenten Ca-F Bindung in Fluorapatit eindeutig widerlegt.^[115]

In der in Tabelle 6 gezeigten chemischen Analyse wurde das Enameloid als Ganzes, d.h. mit dem *shiny layer* und den Kristallitbündeln, analysiert. Für eine getrennte chemische Analyse des *shiny layers* und der Kristallitbündel wurden qualitative EDX-Aufnahmen an geschliffenen Zahnschnitten durchgeführt (Abbildung 15).

Die Elemente Magnesium, Natrium, Calcium, Phosphor und Fluor sind homogen über die gesamte Dicke des Enameloid verteilt (Abbildung 15A). Das bedeutet, dass das gesamte Enameloid aus der gleichen Mineralphase besteht. Im Vergleich zum Dentin zeigt das Enameloid höhere Signale für Calcium, Phosphor und Fluor sowie eine geringere Intensität für Magnesium und keinen signifikanten Unterschied für Natrium. Diese Ergebnisse werden durch die elementanalytischen Ergebnisse bestätigt (Tabelle 6).

Der *shiny layer* zeigt höhere Signale für Magnesium und Natrium. Die Signale für Calcium, Phosphor und Fluor im *shiny layer* und in den darunter liegenden Kristallitbündeln sind vergleichbar (Abbildung 15B). Magnesium als Substituent reduziert die Kristallinität von Apatiten, während Natrium keinen signifikanten Einfluss auf die Kristallinität hat.^[6] Insgesamt zeigen die EDX-Spektren, dass sich die chemische Zusammensetzung des *shiny layers* leicht von der der Kristallitbündel unterscheidet. Diese Unterschiede sind aber wahrscheinlich nicht auf eine andere Mineralphase zurückzuführen, die im *shiny layer* vorliegt, sondern auf eine andere Substitution innerhalb des Apatit-Gitters im Vergleich zu den Kristallitbündeln (Natrium, Magnesium).

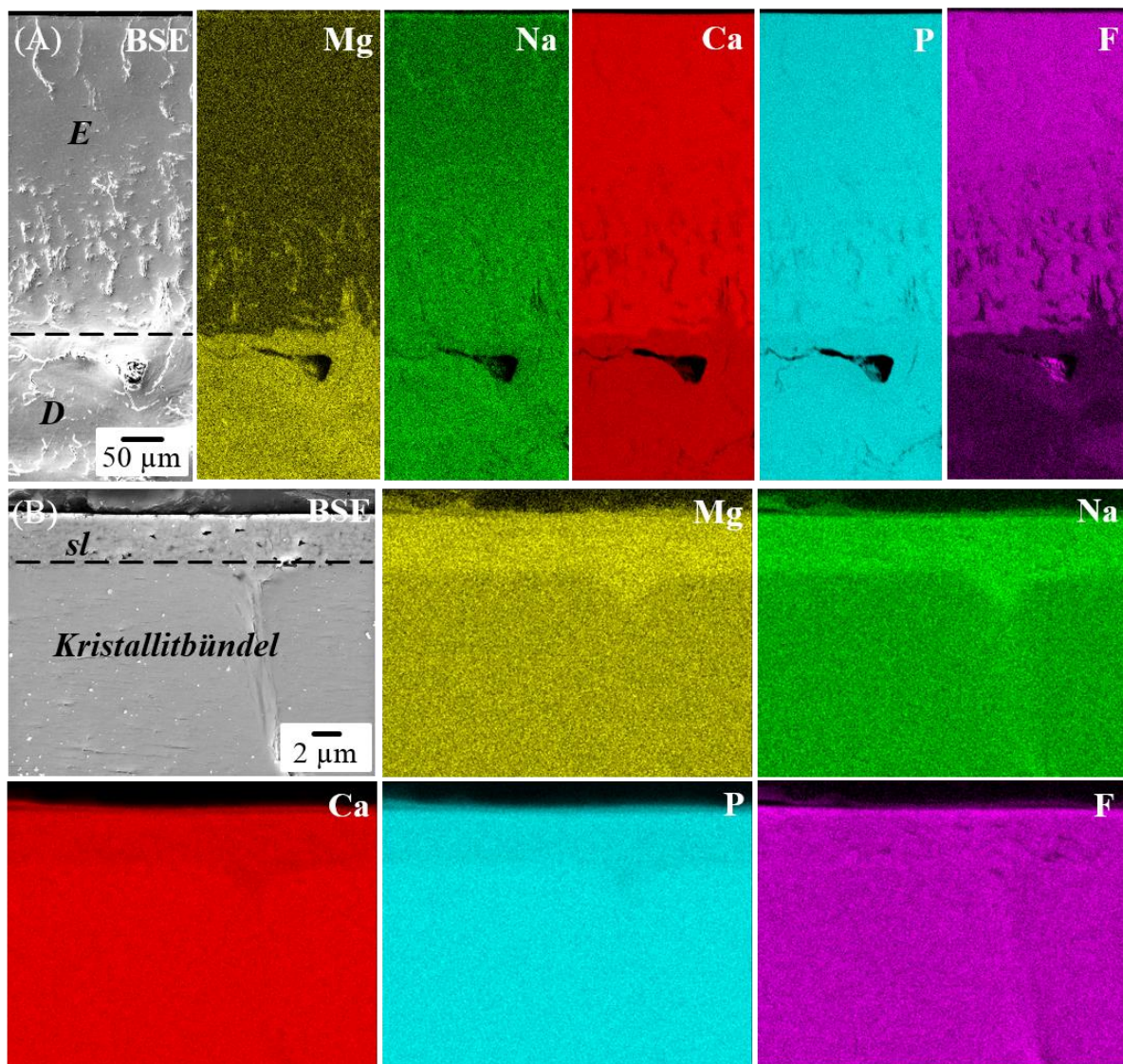


Abbildung 15: Qualitative EDX-Aufnahmen von polierten axialen Schnitten eines Zahns von *I. oxyrinchus* zeigen die Verteilung von Magnesium, Natrium, Calcium, Phosphor und Fluor im Enameloid "E", im Dentin "D" und im *shiny layer* "sl". (A) Elementverteilung über das gesamte Enameloid mit dem Dentin-Enameloid-Übergang und dem äußeren Teil des Enameloids. (B) Elementverteilung im *shiny layer* und den darunterliegenden Kristallitbündeln.

Das Enameloid zeigt im Gegensatz zum Dentin schmale Beugungsreflexe in den Röntgenpulverdiffraktogrammen, die auf eine hohe Kristallinität hindeuten (Abbildung 16). Die breiten Reflexe des Dentins deuten auf ein nanokristallines Biomineral hin. Alle Reflexe können dem Fluorapatit zugeordnet werden. Die

Diffraktogramme der Enameloid-Proben sind sehr ähnlich zu dem Diffraktogramm des geologischen Fluorapatit-Kristalls und bestätigen somit die Anwesenheit von Fluorapatit im Enameloid. Im Vergleich zum Enameloid sind die Reflexe des geologischen Fluorapatits etwas schärfer.

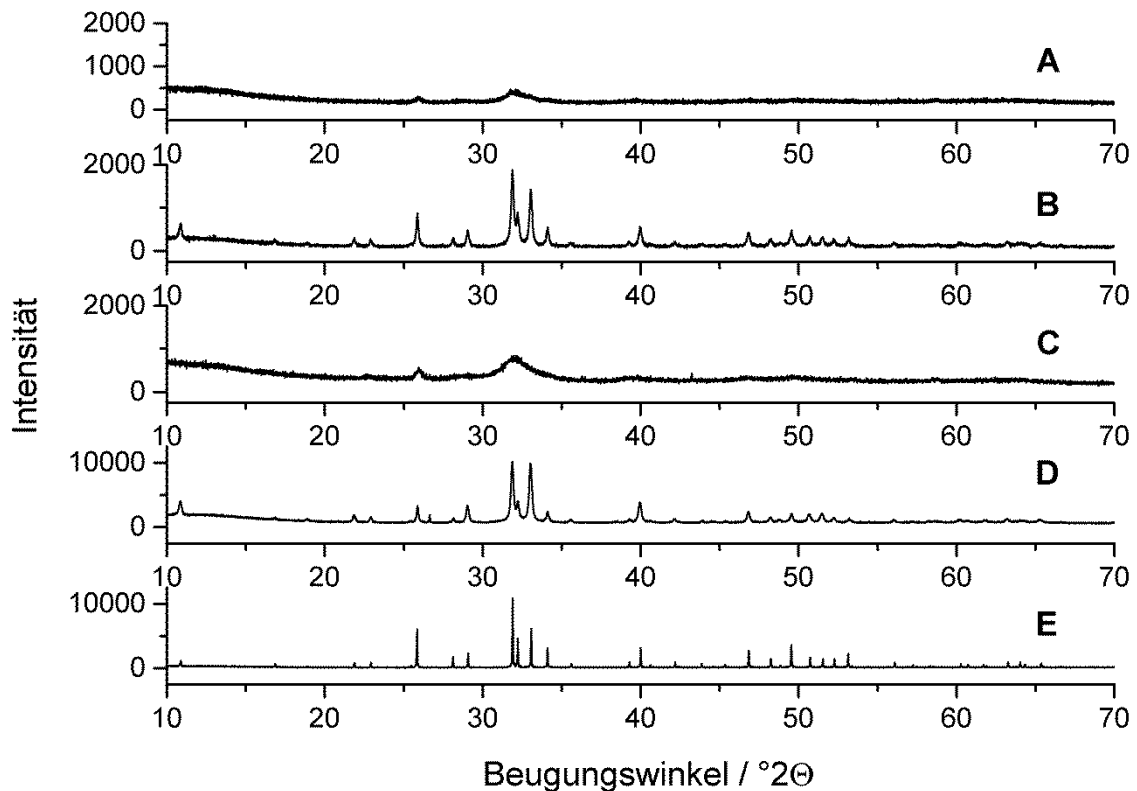


Abbildung 16: Röntgenpulverdiffraktogramme von (A) *I. oxyrinchus* Dentin, (B) *I. oxyrinchus* Enameloid, (C) *G. cuvier* Dentin, (D) *G. cuvier* Enameloid und (E) einem geologischen Fluorapatit-Kristall. Die Beugungsreflexe von Enameloid sind deutlich schärfer als die von Dentin.

Neben der chemischen Fluoridanalyse wurde die Anwesenheit von Fluorid im Apatit-Gitter auch durch die Analyse der Gitterparameter bestätigt (Tabelle 7). Die Länge der c -Achse ist in Hydroxylapatit und Fluorapatit vergleichbar. Die a -Achse hingegen ist vom Fluoridgehalt abhängig. Die Substitution von Hydroxidionen durch Fluoridionen führt zu einer Verkürzung der a -Achse, während die Länge der c -Achse nahezu konstant bleibt. LeGeros und Suga beschreiben einen linearen Zusammenhang zwischen der Länge der a -Achse und der Fluoridkonzentration in Apatiten.^[114] Verwendet man diese Beziehung für die Werte der a -Achse des Fluorapatits, die in dieser Studie erhalten wurden, so erhält man einen Fluoridgehalt von ca. 3,4 Gew%, was gut mit den Ergebnissen der chemischen Fluoridanalyse übereinstimmt (Tabelle 6).

Tabelle 7: Gitterparameter von Dentin und Enameloid von Zähnen von *I. oxyrinchus*, *G. cuvier*, einem geologischen Fluorapatit-Kristall und Hydroxylapatit.

		a -Achse/Å	c -Achse/Å	$V/\text{Å}^3$
<i>I. oxyrinchus</i>	Dentin	9,403(2)	6,852(2)	524,6(3)
	Enameloid	9,38346(1)	6,88481(1)	524,99(1)
<i>G. cuvier</i>	Dentin	9,405(5)	6,832(5)	523,4(7)
	Enameloid	9,3874(2)	6,8816(2)	525,18(3)
Geologischer Fluorapatit- Kristall		9,37500(3)	6,88847(3)	5524,319(4)
Synthetischer Hydroxylapatit (Sigma-Aldrich)		9,4471(6)	6,8848(4)	532,13(7)
Synthetischer Fluorapatit ^[116]		9,3716(1)	6,8843(1)	523,62
Geologischer Hydroxyl- apatit ^[117]		9,4249(4)	6,8838(4)	529,56

Dentin und Enameloid beider Haifischzähne zeigen eine Anisotropie in der Größe der kristallinen Domänen (Tabelle 8). In *c*-Richtung sind die Domänen größer, was durch schmalere Reflexe in (001)-Richtung deutlich wird. Ähnliche Ergebnisse wurden von Peters *et al.* für Knochenproben erhalten.^[118]

Tabelle 8: Domänengrößen (in nm), berechnet aus den Röntgenpulverdiffraktogrammen mithilfe der Scherrer-Gleichung. BW: Beugungswinkel in °2 Θ , (A) *G. cuvier* Enameloid, (B) *I. oxyrinchus* Enameloid, (C) *G. cuvier* Dentin und (D) *I. oxyrinchus* Dentin.

	(110)	(111)	(002)	(210)	(030)	(310)	(222)	(213)	(004)
BW	18,9	22,9	25,9	29,1	33,0	40,0	46,8	49,6	53,6
A	32	54	48	43	37	37	49	75	53
B	34	45	42	41	37	34	44	50	52
C	-	11	10	2,4	-	2,2	-	-	-
D	-	8	13	2,0	-	2,1	-	-	-

Die IR-Spektren der Haifischzähne zeigen charakteristische Absorptionsbanden für biologische Apatite (Phosphat: 490-640 cm^{-1} und 900-1360 cm^{-1} , Carbonat: 875 cm^{-1} und 1360-1590 cm^{-1} , Wasser: 3010-3660 cm^{-1}) (Abbildung 17). Die Form der Carbonat-Banden, d.h. viele schmale Banden im Bereich von 1360-1590 cm^{-1} , deuten auf eine B-Typ-Substitution von Carbonat im Apatit-Gitter hin (CO_3^{2-} für PO_4^{3-} und Na^+ für Ca^{2+}). Bei einer A-Typ-Substitution (CO_3^{2-} für OH^-) wären in diesem Bereich zwei scharfe Banden zu sehen. Eine B-Typ-Substitution von Carbonat findet überwiegend in wässrigen Umgebungen statt. Eine A-Typ-Substitution hingegen findet bei hohen Temperaturen und trockenen Bedingungen statt.^[119] Zudem gibt es eine schwache C-H-Bande (2940 cm^{-1}) und eine Carbonylbande (1600-1700 cm^{-1}), die auf die Anwesenheit einer organischen Matrix hinweisen. Die IR-Spektren der Haifischzähne sind sehr ähnlich zum IR-Spektrum des geologischen Fluorapatit-Kristalls.

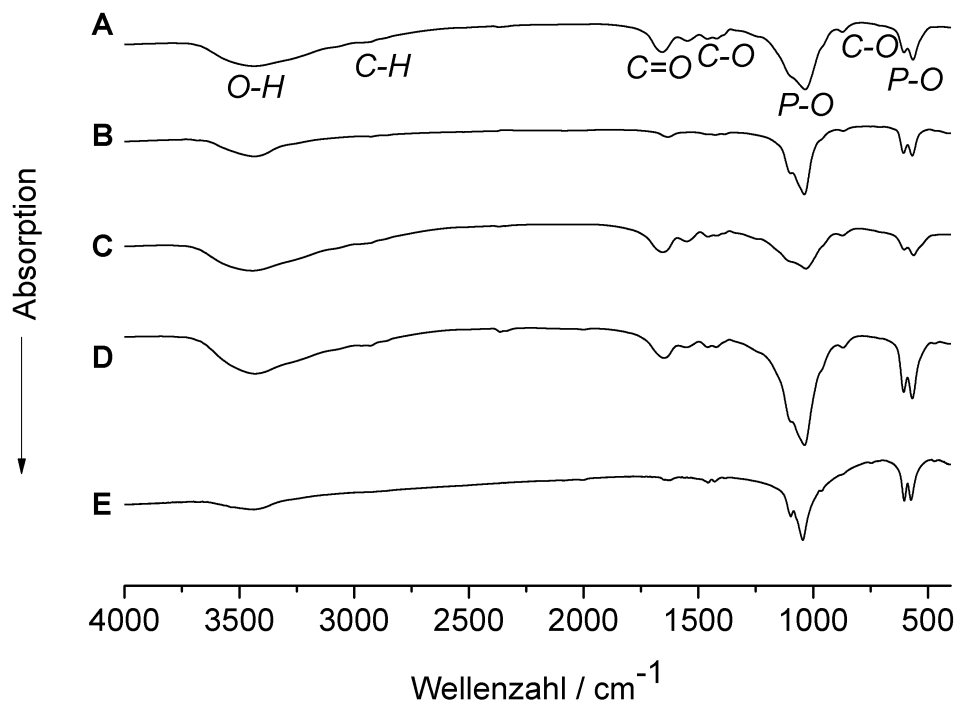


Abbildung 17: IR-Spektren von (A) *I. oxyrinchus* Dentin, (B) *I. oxyrinchus* Enameloid, (C) *G. cuvier* Dentin, (D) *G. cuvier* Enameloid und (E) einem geologischen Fluorapatit-Kristall, gekennzeichnet mit den für Apatite charakteristischen Banden.

Das Dentin hat einen höheren Anteil an Wasser, organischer Matrix und Carbonat im Vergleich zum Enameloid (Abbildung 18). Insgesamt sind die Werte vergleichbar mit denen von humanen Zähnen.^[6]

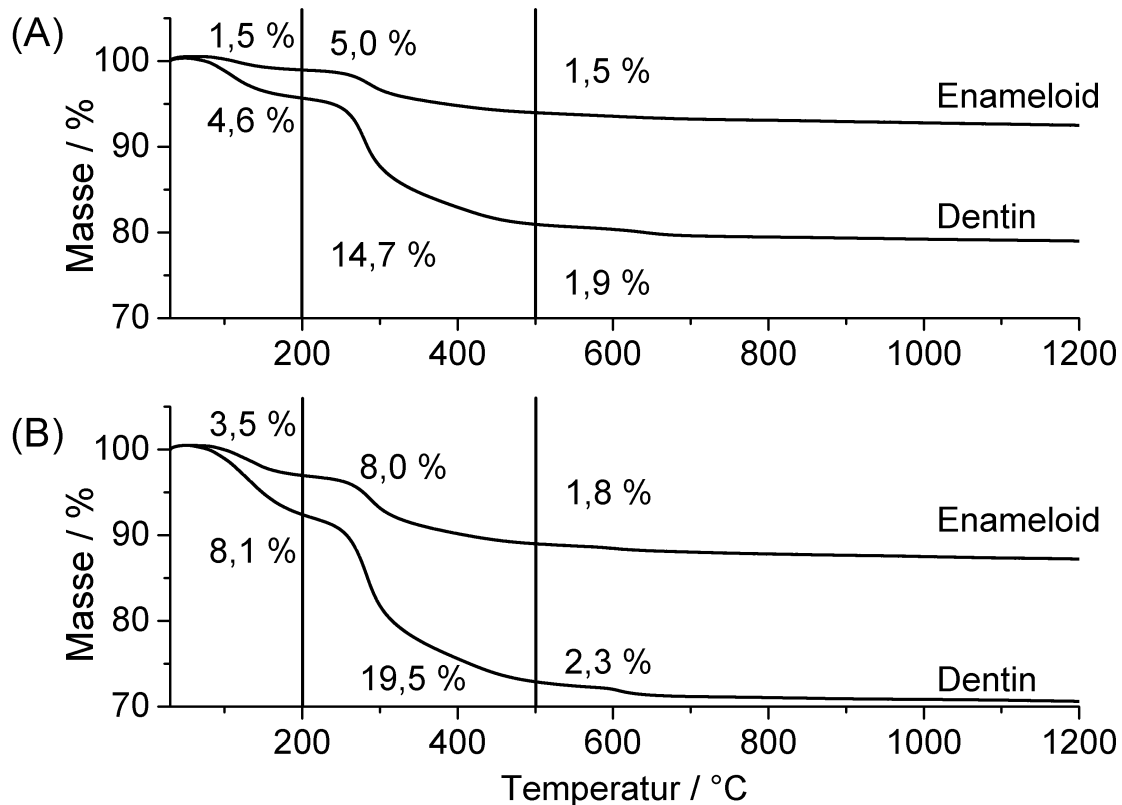


Abbildung 18: Thermogravimetrische Messkurven von Zähnen von (A) *I. oxyrinchus* und (B) *G. cuvier* (jeweils Dentin und Enameloid). Die Masseverluste sind mit den entsprechenden prozentualen Anteilen angegeben: <200 °C: Freisetzung von Wasser, 200-500 °C: Abbrand der organischen Matrix und >500 °C: Freisetzung von CO₂ aus Carbonat-Apatit.

5.1.5 Lokale mechanische Eigenschaften

Mechanische Messungen mittels Vickers-Mikrohärteprüfung und Nanoindentation wurden an unterschiedlichen Positionen an Zähnen von *I. oxyrinchus* und *G. cuvier* durchgeführt (axial und transversal; Dentin und Enameloid). In allen Positionen, die in Abbildung 19 markiert sind, wurden mittels Nanoindentation 400 Indentationen durchgeführt, die eine gute Reproduzierbarkeit zeigen (siehe Beispiel in Abbildung 20).

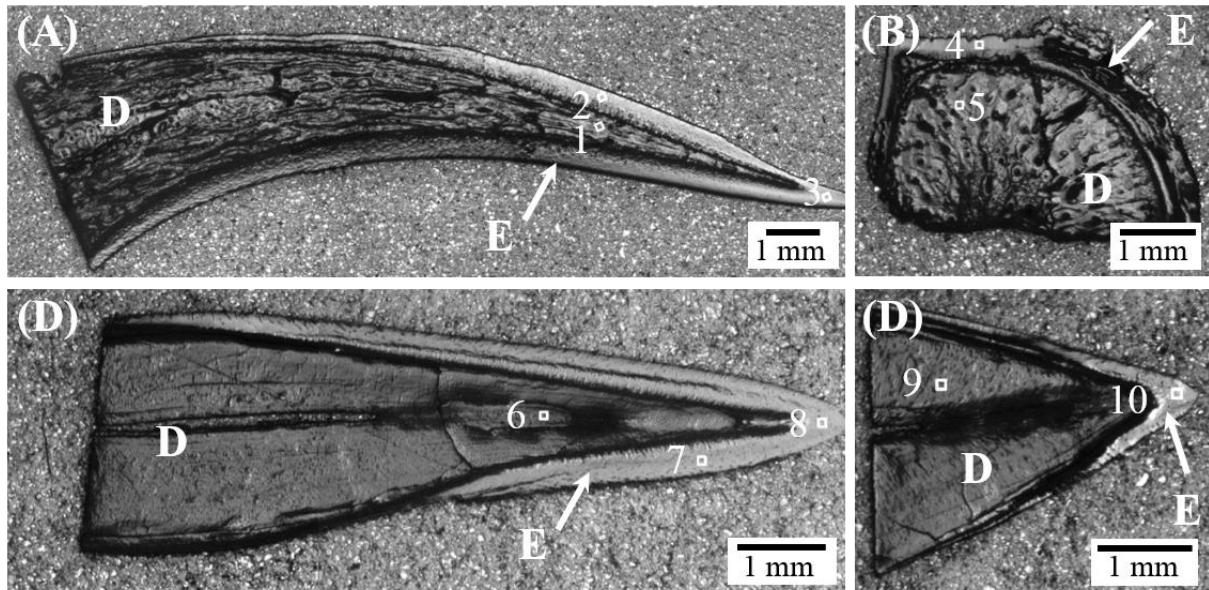


Abbildung 19: Übersicht über die mittels Nanoindentation untersuchten Bereiche auf Zahnoberflächen von (A,B) *I. oxyrinchus* und (C,D) *G. cuvier*. (A,C axiale Schnitte; B,D transversale Schnitte). Die Indentationsbereiche mit je 400 Indentationen sind von 1-10 nummeriert (D: Dentin; E: Enamel). Die Ergebnisse sind in Tabelle 9 aufgeführt.

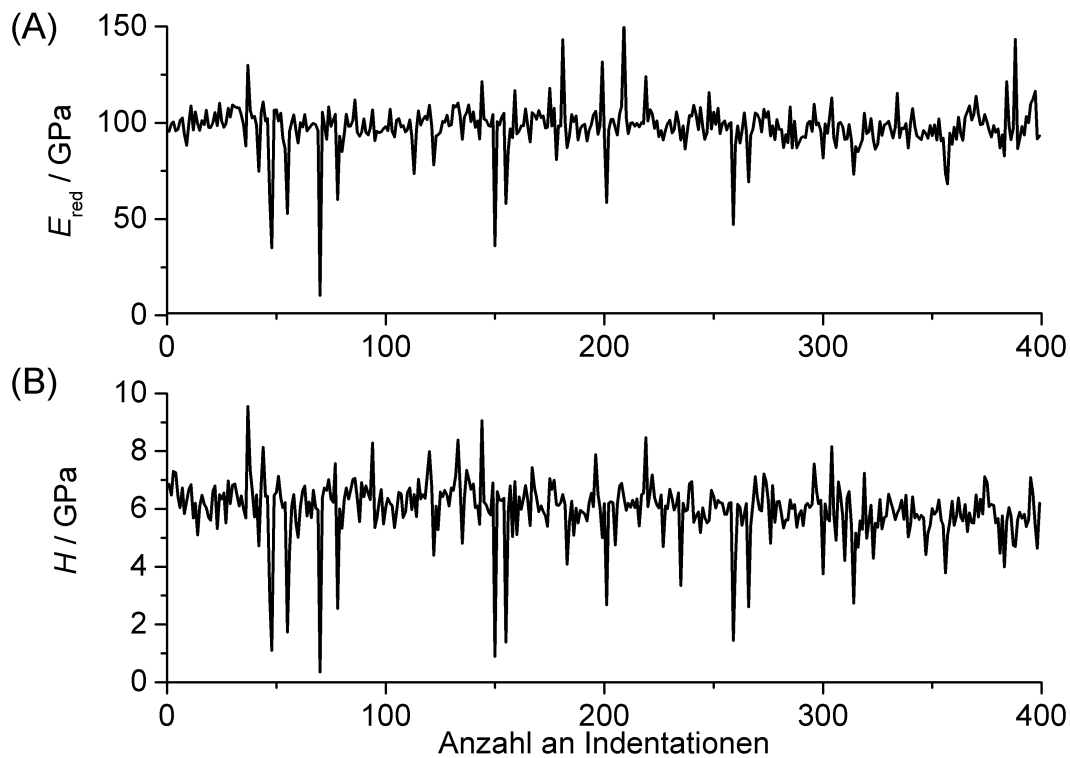


Abbildung 20: Repräsentative Ergebnisse von 400 Nanoindentationen an einem Zahn von *G. cuvier* (Enameloid) (A) Reduzierter E-Modul E_{red} und (B) Nanohärte H ; jeweils in GPa.

Einen Überblick über die Vickers-Indentationen zeigt Abbildung 21.

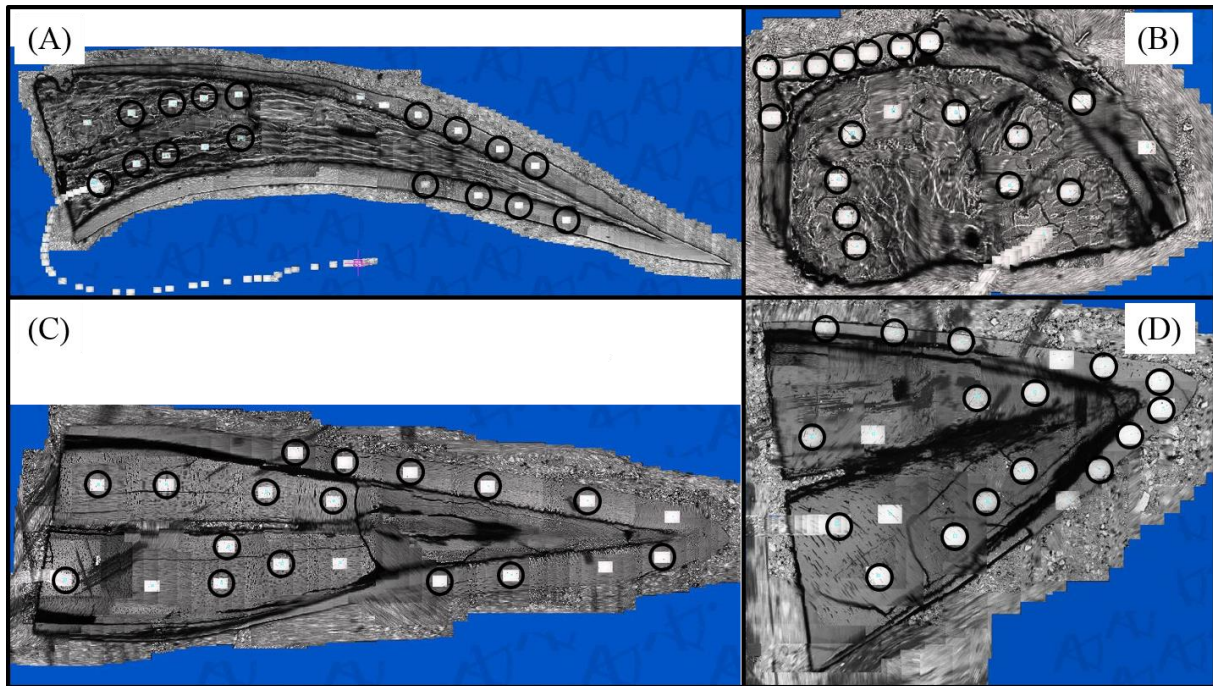


Abbildung 21: Positionen der Vickers-Indentationen an einer Oberfläche eines Zahns von (A,B) *I. oxyrinchus* und (C,D) *G. cuvier* (A,C axiale Schnitte; B,D transversale Schnitte). Die Ergebnisse sind in Tabelle 10 aufgeführt.

Die Nanohärte von Zähnen von *I. oxyrinchus* und *G. cuvier* beträgt ca. 1 GPa für das Dentin und ca. 6 GPa für das Enameloid (Tabelle 9). Auch der reduzierte E-Modul ist vergleichbar zwischen den Zähnen der beiden Haifischspezies (Dentin ca. 30 GPa und Enameloid ca. 100 GPa). Enameloid ist somit etwa sechsmal härter als das Dentin, was durch die Vickers-Mikrohärtemessungen bestätigt wurde (Tabelle 10). Dieses lässt sich auf den deutlich höheren Mineralisierungsgrad des Enameloid verglichen mit dem Dentin zurückführen (siehe Thermogramme in Abbildung 18).

Experimente mittels Nanoindentation wurden von Whitenack *et al.* an Zähnen der Haifischspezies *Sphyrna tiburo* und *Carcharias taurus* durchgeführt.^[120] Die Härte des Enameloids liegt hier im Bereich von 3,0-3,8 GPa und der reduzierte E-Modul liegt im Bereich von 67,4-77,3 GPa. Diese Werte sind niedriger als die für diese Studie gemessenen Werte für *I. oxyrinchus* und *G. cuvier*. Der Gründe für diese Unterschiede sind nicht bekannt. Möglicherweise könnte die geringere Kraft

von 300 μN und die damit geringere Eindringtiefe von ca. 0,03-0,13 μm in dieser Studie verglichen mit 2 μm Eindringtiefe bei Whitenack *et al.* eine Rolle spielen. Es wurde berichtet, dass die Härtewerte von Metallen, die mittels Nanoindentation ermittelt wurden, etwa 10-30 % höher sind als die, die mittels Mikroindentation gemessen wurden.^[121]

Die Zahnspitzen waren insgesamt nicht härter als andere Bereiche im Enameloid. Die Nanohärte von axialen und transversal geschnittenen Zahnproben ist vergleichbar und zeigt, dass die Nanohärte von Haifischzähnen überwiegend isotrop ist. Im Gegensatz zur Nanoindentation wird bei der Vickers-Mikrohärtemessung eine größere Fläche indentiert. Deshalb können Nanoindentation und Vickers-Härte nicht direkt verglichen werden. Der Trend der Nanoindentation wurde aber bestätigt. Die lokalen mechanischen Eigenschaften sind vergleichbar zwischen den Haifischspezies und nicht abhängig von axialen oder transversalen Schnitten.

Die Nano- und Mikrohärte zwischen Haifischzähnen und humanen Zähnen ist vergleichbar. Das bedeutet, dass die Härte der Zähne unabhängig vom Apatit-Typ ist (Haifischzähne: Fluorapatit; humane Zähne: Hydroxylapatit). Der Einbau von Fluoridionen in das Apatit-Gitter hat somit keinen signifikanten Einfluss auf die Nano- und Mikrohärte der Zähne.

Der geologische Fluorapatit-Kristall ist deutlich härter als die Zahnproben. Mittels Nanoindentation wurde keine signifikante Anisotropie zwischen Stirn- und Seitenfläche des geologischen Fluorapatit-Kristalls gefunden. Bei der Vickers-Mikrohärtemessung hingegen wurde eine Anisotropie gefunden, wobei bei der Indentation der Seitenfläche größere Risse als bei der Indentation der Stirnfläche zu beobachten sind (Abbildung 22). In der Literatur wurde für Hydroxylapatit-Einkristalle eine leichte Anisotropie durch Messungen mittels Nanoindentation gezeigt.^[122-123]

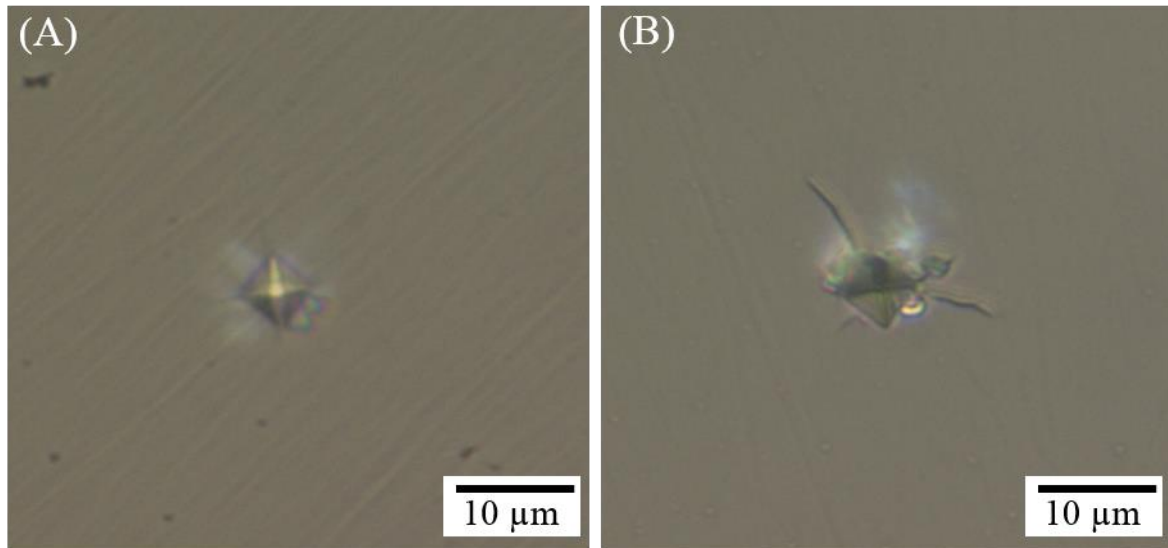


Abbildung 22: Repräsentative Vickers-Indentationen (A) an einer Stirnfläche (Indentationen parallel zu $[001]$) und (B) an einer Seitenfläche (Indentationen senkrecht zu $[001]$) eines geologischen Fluorapatit-Kristalls. In (B) bilden sich an den Indentationseindrücken Risse aus.

Tabelle 9: Ergebnisse der Nanoindentationsexperimente an Zähnen von *I. oxyrinchus* und *G. cuvier* (jeweils Dentin und Enameloid; die Positionen **1-10** sind in Abbildung 19 markiert), einem humanen Zahn (Dentin und Enamel) und einem geologischen Fluorapatit-Kristall. Der arithmetische Mittelwert aus 400 Indentationen \pm Standardabweichung ist angegeben. Die Richtung der Indentation wurde immer senkrecht zu der Schnittrichtung des Zahns durchgeführt. Nanohärte H und reduzierter E-Modul E_{red} in GPa.

	Schnitt	H / GPa	E_{red} / GPa
<i>I. oxyrinchus</i>	1 (Dentin, axial)	1,3 \pm 0,4	32 \pm 10
	2 (Enameloid, axial)	6,2 \pm 1,4	99 \pm 17
	3 (Enamel, axial, Spitze)	7,5 \pm 1,3	131 \pm 19
	4 (Dentin, transversal)	2,1 \pm 0,4	49 \pm 5
	5 (Enameloid, transversal)	6,8 \pm 0,9	127 \pm 14
<i>G. cuvier</i>	6 (Dentin, axial)	0,7 \pm 0,3	17 \pm 5
	7 (Enameloid, axial)	6,0 \pm 1,0	98 \pm 12
	8 (Enameloid, axial, Spitze)	5,8 \pm 1,0	94 \pm 12
	9 (Dentin, transversal)	1,2 \pm 0,3	32 \pm 6
	10 (Enameloid, transversal)	6,10,8	100 \pm 11
Humaner Zahn	Dentin, axial	1,4 \pm 0,8	30 \pm 8
	Enamel, axial	7,0 \pm 0,6	109 \pm 6
	Enamel, axial, Spitze	7,6 \pm 0,5	116 \pm 5
	Dentin, transversal	1,3 \pm 0,6	30 \pm 7
	Enamel, transversal	6,3 \pm 0,8	106 \pm 7
Humaner Zahn	Dentin ^[124]	1,0 \pm 0,1	21 \pm 2
	Enamel ^[125]	3,4 \pm 0,2	91 \pm 16
Geologischer	Stirnfläche	11,3 \pm 0,8	148 \pm 9
Fluorapatit-Kristall	Seitenfläche	11,9 \pm 0,8	153 \pm 8

Tabelle 10: Ergebnisse der Vickers-Mikrohärtemessungen an Zähnen von *G. cuvier*, *I. oxyrinchus* (jeweils Dentin und Enameloid), einem humanen Zahn (Dentin und Enamel) und einem geologischen Fluorapatit-Kristall. Der arithmetische Mittelwert aus acht Indentationen \pm Standardabweichung ist angegeben. Die Werte sind in Vickers-Härte (in kg mm^{-2}) und zusätzlich in Klammern in Berkovich-Härte (in GPa) angegeben.

		H in kg mm^{-2} (und umgerechnet in GPa)	
	Schnitt	Dentin	Enamel(oid)
<i>I. oxyrinchus</i>	axial	34 \pm 10 (0,4 \pm 0,1)	284 \pm 78 (3,1 \pm 0,8)
	transversal	52 \pm 29 (0,6 \pm 0,3)	301 \pm 117 (3,2 \pm 1,3)
<i>G. cuvier</i>	axial	36 \pm 4 (0,4 \pm 0,04)	368 \pm 4 (4,0 \pm 0,4)
	transversal	38 \pm 4 (0,4 \pm 0,04)	343 \pm 45 (3,7 \pm 0,5)
Humaner Zahn	axial	58 \pm 3 (0,6 \pm 0,03)	385 \pm 19 (4,2 \pm 0,2)
	transversal	66 \pm 3 (0,7 \pm 0,03)	401 \pm 24 (4,3 \pm 0,3)
Humaner Zahn ^[126]	axial und transversal	50-60 (0,5-0,6)	270-360 (2,9-3,9)
Geologischer Fluorapatit-Kristall	Stirnfläche	625 \pm 17 (6,7 \pm 0,2)	
	Seitenfläche	377 \pm 24 (4,1 \pm 0,3)	

Die lokalen mechanischen Eigenschaften des *shiny layers* und der einzelnen Kristallitbündel des Enameloids wurden mittels Nanoindentation analysiert (Tabelle 11). Mittels Nanoindentation können die lokalen mechanischen Eigenschaften von biologischen Materialien in hoher Auflösung bestimmt werden (siehe beispielsweise Arbeiten von Fabritius *et al.*^[94, 127])

Die Zähne wurden axial und orthogonal geschnitten (Abbildung 11). Somit wurden die Fluorapatit-Kristallite in axialen und die umlaufenden Bündel in zwei unterschiedlichen Richtungen indentierte: Parallel und senkrecht zur Längsachse der Kristallite (Abbildung 11 und Tabelle 11). Aufgrund der schrägen Form der Zahnkrone wurden die radialen Bündel in einem leicht geneigten Winkel in axial und orthogonal geschnittenen Proben indentierte.

Die Werte für E_{red} (91 ± 12 GPa) und H ($5,5 \pm 1,0$ GPa), die für den *shiny layer* erhalten wurden, sind vergleichbar mit den Werten für die Kristallitbündel des Enameloids (E_{red} : 103 ± 11 GPa; H : $4,9 \pm 0,7$ GPa). Dies ist bemerkenswert, da sich die beiden Gewebetypen in ihrer strukturellen Organisation (Abbildung 11) und (leicht) in ihrer chemischen Zusammensetzung (Abbildung 15) unterscheiden.

Die durchschnittlichen Werte für E_{red} und H , die für die beiden Indentationsrichtungen parallel (E_{red} : 107 ± 9 GPa; H : $4,9 \pm 0,5$ GPa) und senkrecht (E_{red} : 98 ± 10 GPa; H : $5,1 \pm 0,7$ GPa) zur Längsachse der Fluorapatit-Kristallite erhalten werden, sind sehr ähnlich (Tabelle 11). Diese Ergebnisse sind in guter Übereinstimmung mit der sehr geringen elastischen Anisotropie, die von Sha und Bradt für Fluorapatit-Einkristalle gemessen wurde.^[128]

Die statistische Signifikanz der Ergebnisse für E_{red} und H wurde durch eine Varianzanalyse (ANOVA) ermittelt. Hierzu wurden die vier untersuchten Zähne ("1-4"; siehe Tabelle 11) und die beiden unterschiedlichen Indentationsrichtungen (parallel oder senkrecht zur Längsachse der Kristallite) als Faktoren verwendet, gefolgt von einem Tukey-Test.

Die Varianzanalysen zeigen, dass es für E_{red} und H signifikante Unterschiede zwischen den Mittelwerten, die für die Zähne "1", "3" und "4" erhalten wurden, gibt. Die Unterschiede für Zahn "2" sind hingegen nicht signifikant (Tabelle 11). Dies kann auf die biologische Variabilität (bedingt durch Umweltbedingungen, Gesundheitszustand und Alter der Haifische etc.) zurückgeführt werden.

Senawongse *et al.* zeigten beispielsweise, dass die Härte von humanem Dentin vom Alter der Zähne abhängig ist.^[26]

Die Unterschiede zwischen den Mittelwerten für die Indentationsrichtungen parallel oder senkrecht zur Längsachse der Kristallite sind nur für E_{red} signifikant, nicht aber für H . Das bedeutet, dass die Fluorapatit-Kristallite entlang ihrer Längsachse etwas steifer sind als senkrecht zur Längsachse, wobei die Härte gleich ist.

Tabelle 11: Ergebnisse der Nanoindentationsexperimente am Enameloid von Zähnen von *I. oxyrinchus* (Kristallitbündel und *shiny layer*). Angegeben sind der reduzierte E-Modul E_{red} und die Nanohärte H . Die Ergebnisse sind nach Gewebetyp, Indenationsrichtung der Fluorapatit-Kristallite unabhängig von der Orientierung der Bündel und nach dem Bündeltyp und der Indentationsrichtung der vier untersuchten Zahnproben geordnet. Varianzanalysen (ANOVA) zeigen, dass es für E_{red} und H signifikante Unterschiede zwischen den Mittelwerten, die für die drei unterschiedlichen Zähne "1", "3" und "4" erhalten wurden, gibt (gekennzeichnet mit einem Sternchen *). Die Unterschiede zwischen den Mittelwerten für die Indentationsrichtungen parallel oder senkrecht zur Längsachse der Kristallite sind nur für E_{red} signifikant (gekennzeichnet mit zwei Sternchen **). n.v.: nicht vorhanden.

5. Ergebnisse und Diskussion

Gewebetyp			E_r / GPa	H / GPa	
Shiny layer (insgesamt)			91 ± 12	5,5 ± 1,0	
Enameloid (insgesamt)			103 ± 11	4,9 ± 0,7	
Fluorapatit-Kristallite			Indentationsrichtung bezogen auf die Längsachse		
			parallel	107 ± 9	4,9 ± 0,5
			senkrecht	98 ± 10	5,1 ± 0,7
			geneigt	90 ± 11	4,5 ± 1,1
Zahn	Nr.,	Kristallitbündeltyp	Indentationsrichtung bezogen auf die Längsachse		
untersuchte Fläche					
1, axial*	umlaufend	parallel	110 ± 6**	5,0 ± 0,3	
	axial	senkrecht	100 ± 8**	5,3 ± 0,5	
	radial	geneigt	96 ± 7	5,1 ± 0,8	
2, axial*	umlaufend	parallel	95 ± 9	5,2 ± 0,7	
	axial	senkrecht	n.v.	n.v.	
	radial	geneigt	89 ± 9	4,2 ± 1,1	
3, orthogonal*	axial	parallel	105 ± 5**	4,2 ± 0,2	
	umlaufend	senkrecht	91 ± 7**	4,5 ± 0,5	
	radial	geneigt	86 ± 10**	4,2 ± 0,5	
4, orthogonal*	axial	parallel	91 ± 10**	3,8 ± 0,5	
	umlaufend	senkrecht	79 ± 10**	3,5 ± 0,7	
	radial	geneigt	77 ± 13	3,1 ± 0,8	

Die Unterschiede zwischen den Werten von E_{red} und H für den *shiny layer* und den Kristallitbündeln in unterschiedlichen Orientierungen sind gering (Tabelle 11), was durch eine farbkodierte Übersicht über die indentierten Mikrostrukturen verdeutlicht werden kann (Abbildung 23).

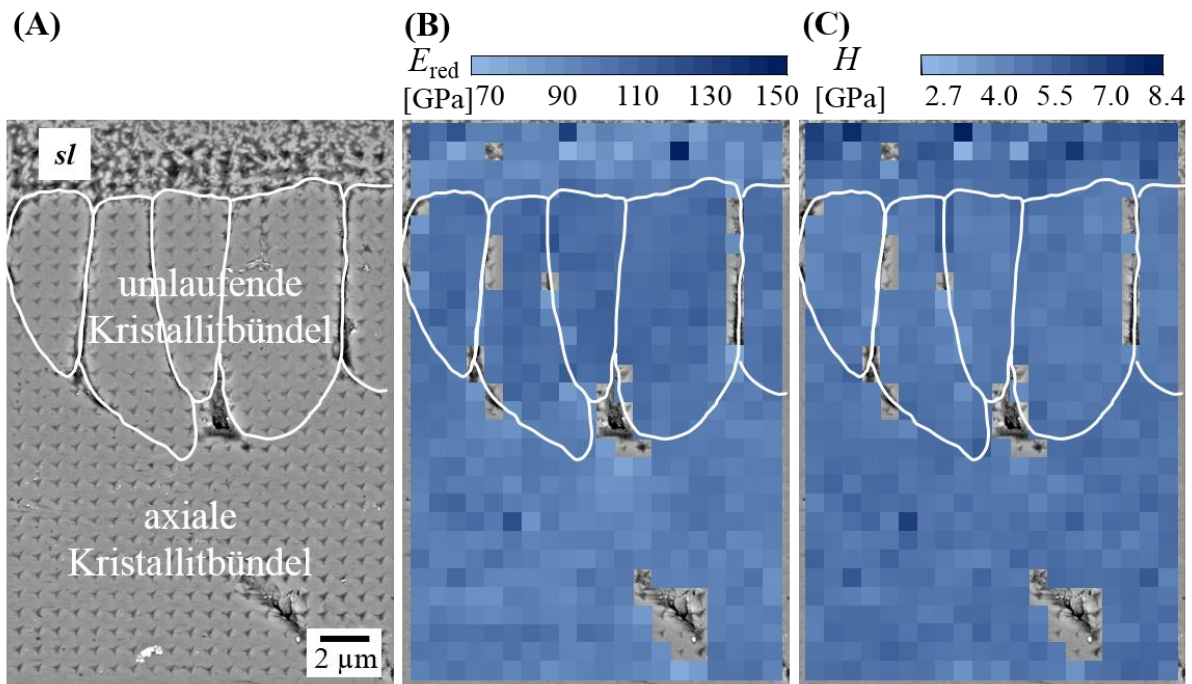


Abbildung 23: Schema der Nanoindentationen und der lokalen mechanischen Eigenschaften eines polierten axialen Schnitts durch das Enameloid eines Zahns von *I. oxyrinchus*. (A) Rasterelektronenmikroskopische Aufnahme der Indentationen auf der Probenoberfläche, die mit EDTA demineralisiert wurde, um die Orientierung der Kristallitbündel sichtbar zu machen (*sl*: *shiny layer*). (B) Lokale Variationen des reduzierten E-Moduls E_{red} und (C) der Härte H . Je dunkler die Farbe, desto höher ist der entsprechende Wert für E_{red} bzw. H .

5.1.6 Korrelation der Analysen mit der Funktion der Zähne

Die hier vorgestellten Haifische verwenden ihre Zähne für unterschiedliche Funktionen. *I. oxyrinchus* nutzt seine dolchartigen Zähne, um Stücke aus seiner Beute zu reißen. Die Zähne von *G. cuvier* haben eine gezackte Oberfläche, wodurch diese Spezies Teile aus der Beute "heraussägen" kann. Obwohl diese Zähne unterschiedliche Funktionen *in vivo* haben, sind ihre chemischen,

kristallographischen und lokalen mechanischen Eigenschaften sehr ähnlich. Das deutet darauf hin, dass die unterschiedlichen Funktionalitäten der Haifischzähne hauptsächlich durch ihre makroskopischen Formen bestimmt werden.

Der Grund, warum Haifischzähne aus Fluorapatit bestehen, könnte auf seine chemische Beständigkeit zurückzuführen sein. Durch den Einbau von Fluoridionen in das Apatit-Gitter steigt die Stabilität der Apatit-Struktur und die Säurelöslichkeit sinkt.^[60, 63] Somit sind die Haifischzähne aus Fluorapatit im Meerwasser besser geschützt, als wenn sie aus Hydroxylapatit, wie es z.B. in humanen Zähnen vorliegt, bestünden.

5.1.7 Kapitelzusammenfassung: Rezente Haifischzähne

Die Zähne zweier unterschiedlicher Haifischspezies (*Isurus oxyrinchus* und *Galeocerdo cuvier*) wurden strukturell, chemisch und mechanisch untersucht. Als Referenzmaterialien zu den Haifischzähnen wurden ein humaner Zahn und ein geologischer Fluorapatit-Kristall analysiert. Im Gegensatz zum Dentin zeigt das Enameloid scharfe Reflexe in den Röntgenpulverdiffraktogrammen, was auf eine höhere Kristallinität zurückzuführen ist. Die Gitterparameter des Enameloids sind vergleichbar mit denen des geologischen Fluorapatit-Kristalls. Haifischzähne bestehen aus Fluorapatit, wobei der Fluoridgehalt des Enameloids ca. 3,1 Gew% beträgt, was fast so hoch ist wie in einem geologischen Fluorapatit-Kristall (3,64 Gew%). Das Enameloid besteht aus Bündeln von dünnen (50-80 nm) und langen ($> 1 \mu\text{m}$) sehr dicht gepackten Fluorapatit-Kristalliten, die in einer komplexen Struktur hierarchisch organisiert sind. Es können drei Typen von Kristallitbündeln unterschieden werden: Umlaufende, radiale und axiale Kristallitbündel. Zwischen einzelnen Fluorapatit-Kristalliten konnte keine organische Matrix gefunden werden. Jedes Kristallit-Bündel ist von einer dünnen Schicht einer organischen Matrix umhüllt. Den äußersten Teil des Enameloids bildet der *shiny layer*, der im unbehandelten Zustand aus ungeordneten polyedrischen Kristalliten besteht. Thermogravimetrische Analysen zeigten, dass das Dentin mehr Wasser, organische Matrix und Carbonat als das Enameloid enthält. Die Messungen der lokalen mechanischen Eigenschaften mit Vickers-Mikrohärtemessungen und Nanoindentation zeigten, dass das Enameloid etwa sechsmal härter ist als das Dentin. Die Härte von Haifischzähnen und humanen Zähnen ist vergleichbar, obwohl Haifischzähne aus dem härteren Fluorapatit bestehen. Der geologische Fluorapatit-Kristall ist deutlich härter als die untersuchten Zähne, da er keine organische Matrix enthält.

Insgesamt gibt es im Haifischzahn-Enameloid eine starke strukturelle Anisotropie, während die lokalen mechanischen Eigenschaften weitgehend isotrop sind.

5.2 Charakterisierung von fossilen Haifischzähnen

5.2.1 Mikrostrukturen von Dentin und Enameloid

Um die Evolution von Tieren untersuchen zu können, ist es sehr wichtig, deren Fossilien zu untersuchen.^[129]

Die Zähne zweier ausgestorbener Haifischspezies, *Carcharocles megalodon* (ca. 18 Mio. Jahre alt) und *Otodus obliquus* (ca. 60-45 Mio. Jahre alt), wurden charakterisiert und mit den Zähnen rezenter Haifische von *I. oxyrinchus* und *G. cuvier* (siehe Kapitel 5.1) verglichen, um mögliche evolutionäre Veränderungen zu erfassen.

Im Vergleich zu Zähnen rezenter Haifische, die eine weiße Farbe haben, sind die verwendeten fossilen Haifischzähne bräunlich gefärbt (Abbildung 24). Dies lässt sich auf Fremdstoffe zurückführen, die während des Diagenese-Prozesses in die Struktur eingelagert wurden.

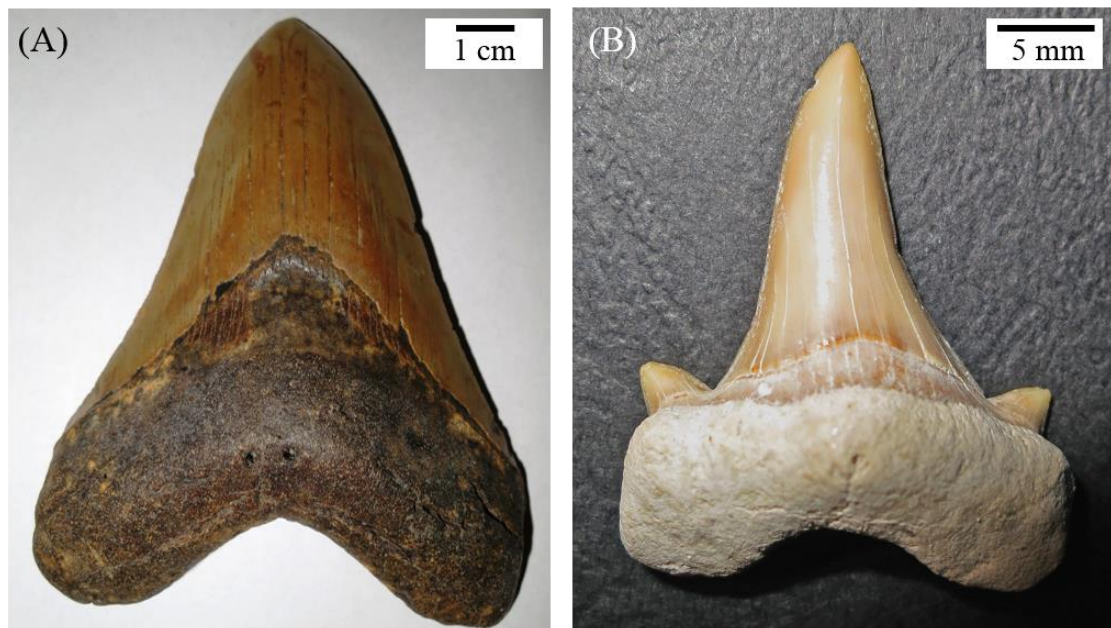


Abbildung 24: Fotos der untersuchten fossilen Haifischzähne. (A) *C. megalodon* (ca. 18 Mio. Jahre alt) und (B) *O. obliquus* (60-45 Mio. Jahre alt). Verglichen mit rezenten Zähnen haben diese fossilen Haifischzähne eine bräunliche Farbe.

Die rasterelektronenmikroskopischen Aufnahmen von Zahnbruchproben von *C. megalodon* und *O. obliquus* zeigen die typischen Bestandteile des Enameloids,

die auch bei Zähnen rezenter Haifische gefunden wurden (Abbildungen 25 und 26).

Den äußeren Teil des fossilen Enameloids bildet der *shiny layer*. Darunter liegen unterschiedlich orientierte Kristallitbündel (Abbildung 24 und 25). Wie bei Zähnen rezenter Haifische, bestehen die Kristallite in fossilem Enameloid auch aus dicht gepackten Kristalliten, die parallel zueinander orientiert sind. Diese Kristallite sind sehr dünn und dabei sehr lang und in ihren Dimensionen vergleichbar mit rezenten Haifischzähnen (Abbildung 24 und 25).

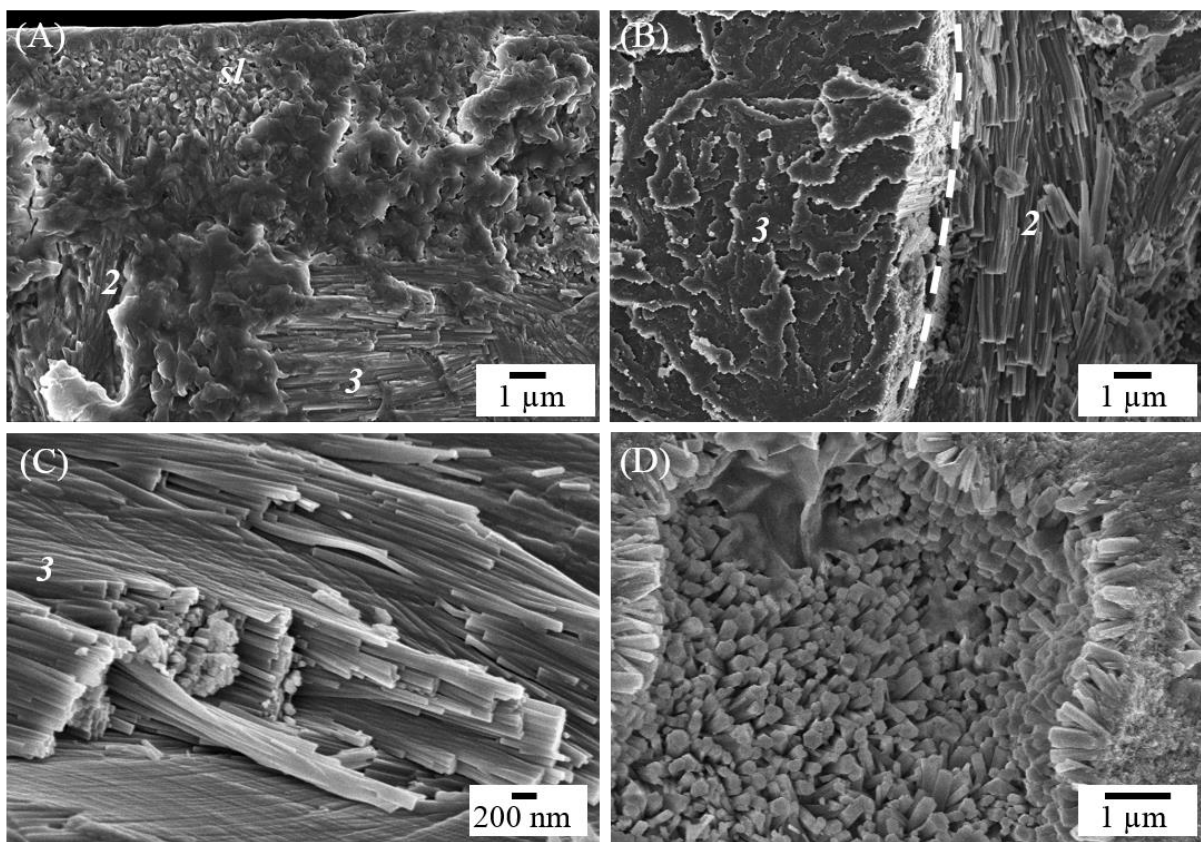


Abbildung 25: Rasterelektronenmikroskopische Aufnahmen von gebrochenen Zahnproben von *C. megalodon*. (A) Mikrostruktur des äußeren Enameloids mit Kristallitbündeln in unterschiedlichen Orientierungen und dem *shiny layer*, (B) einzelne Fluorapatit-Kristallitbündel, (C) einzelne Fluorapatit-Kristallite, die eine Länge von einigen Mikrometern haben und einen Durchmesser im Bereich von Nanometern haben, (D) Dentin-Mikrostruktur mit kristallinen Substanzen (sl: *shiny layer*; 1: Umlaufende Bündel; 2: Radiale Bündel; 3: Axiale Bündel).

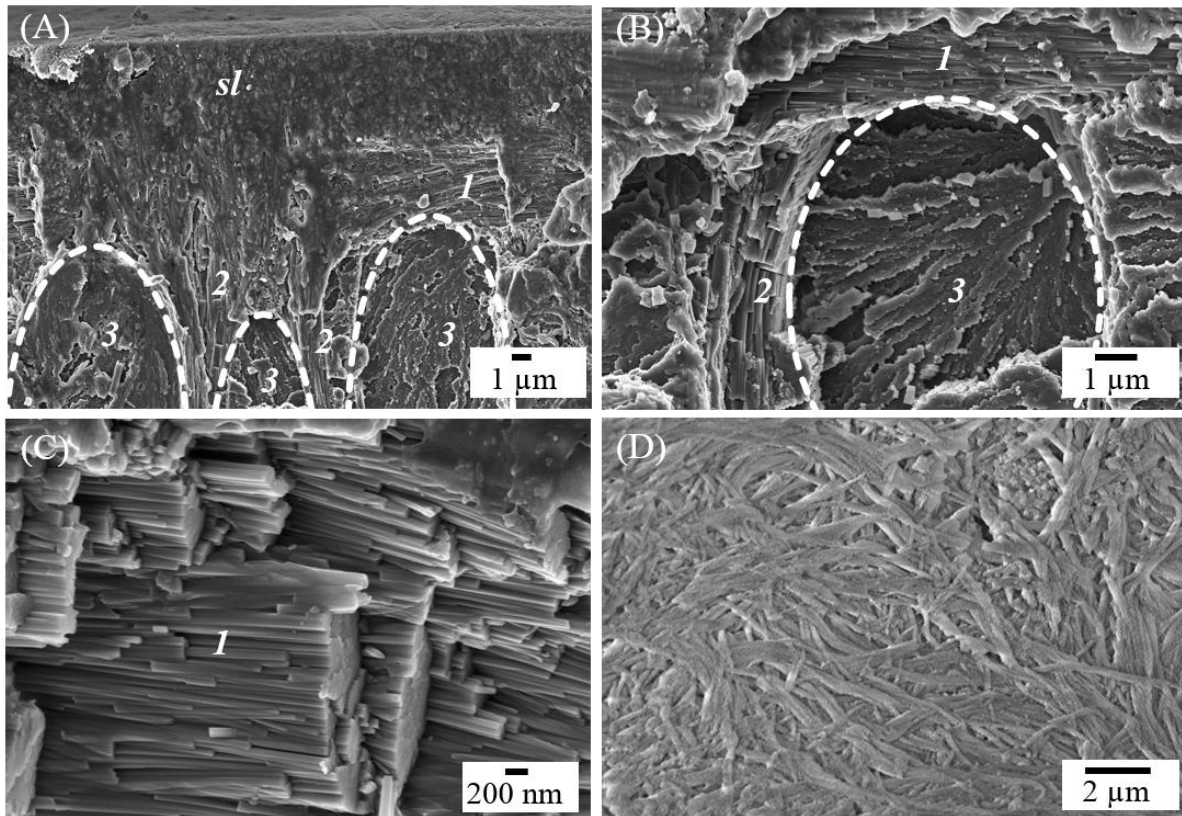


Abbildung 26: Rasterelektronenmikroskopische Aufnahmen von gebrochenen Zahnproben von *O. obliquus*. (A) Mikrostruktur des äußeren Enameloids mit Kristallitbündeln in unterschiedlichen Orientierungen und dem *shiny layer*, (B) einzelne Fluorapatit-Kristallitbündel, (C) einzelne Fluorapatit-Kristallite, die eine Länge von einigen Mikrometern haben und einen Durchmesser im Bereich von Nanometern haben, (D) Dentin-Mikrostruktur mit kristallinen Substanzen (sl: *shiny layer*; 1: Umlaufende Bündel; 2: Radiale Bündel; 3: Axiale Bündel).

Insgesamt sind die Mikrostrukturen des Enameloids der fossilen Zähne von *C. megalodon* und *O. obliquus* sehr ähnlich zu denen rezenter Haifischzähne (Kapitel 5.1.2). Unterschiede gibt es hauptsächlich in den makroskopischen Zahnformen (Abbildung 24).

Das bedeutet, dass sich die Enameloid-Mikrostruktur der Haifischzähne über Millionen von Jahren nicht verändert hat. Dies lässt darauf schließen, dass diese Struktur bereits optimal für die Funktion der Zähne ist, denn sonst hätte sie sich während der Evolution verändert.

Im Dentin sind vereinzelt sehr kleine längliche Kristallite sichtbar, die eine Länge von einigen Hundert nm und eine Breite von einigen nm haben (Abbildung 25 und 26). Diese sind im Dentin rezenter Haifischzähne mittels Rasterelektronenmikroskopie nicht zu erkennen. Hierfür gibt es zwei Erklärungen. Möglich wäre, dass diese Kristallite bereits im ursprünglichen Dentin vorhanden waren. Alternativ könnten während der Diagenese auch Rekristallisationsprozesse innerhalb des Dentins stattgefunden haben. Prinzipiell müssten hierfür Ionen in das poröse Dentin diffundiert sein. Im Dentin rezenter Haifischzähne konnten diese mineralischen Strukturen nicht beobachtet werden.

5.2.2 Chemische und kristallographische Zusammensetzung

Dentin und Enameloid der fossilen Haifischzähne von *C. megalodon* und *O. obliquus* haben eine ähnliche chemische Zusammensetzung. Wie auch bei rezenten Haifischzähnen lassen sich auch Fremdionen wie z.B. Na^+ und Mg^{2+} nachweisen (Tabelle 12).

Tabelle 12: Chemische Zusammensetzung der Zähne von *C. Megalodon* und *O. obliquus* (jeweils Dentin und Enameloid). Zum Vergleich sind die Zusammensetzung eines geologischen Fluorapatit-Kristalls und die theoretische Zusammensetzung eines stöchiometrischen Fluorapatits angegeben. Alle Werte sind in Gew% angegeben.

	<i>C. megalodon</i> Dentin/ Enameloid	<i>O. obliquus</i> Dentin/ Enameloid	Geologischer Fluorapatit- Kristall	Berechnet für stöchiometri- schen Fluorapatit
Ca ²⁺	36,8/37,6	38,1/37,4	38,42	39,74
PO ₄ ³⁻	45,6/51,1	45,3/51,1	53,25	56,50
Ca/P molar	1,91/1,75	1,99/1,73	1,71:1	1,67:1
Na ⁺	1,17/1,01	0,68/0,76	0,18	0
Mg ²⁺	0,23/0,16	0,13/0,13	< 3·10 ⁻⁶	0
F ⁻	2,9/3,54	3,26/3,27	3,64	3,77

In rezenten Haifischzähnen hat das Enameloid einen höheren Mineralanteil als das Dentin (siehe Kapitel 5.1.4). Auffällig ist auch der hohe Fluoridanteil (ca. 3 Gew%) im Dentin von fossilen Haifischzähnen (Tabelle 12). Das Enameloid von rezenten Haifischzähnen enthält deutlich weniger Fluorid (ca. 1 Gew%). Dies lässt aber nicht zwingend darauf schließen, dass das Dentin von Haifischzähnen früher aus Fluorapatit bestand. Dentin ist porös und könnte sich auch während der Diagenese verändert haben. Die chemische Zusammensetzung von fossilem Enameloid entspricht der von rezentem Enameloid, was auf seine Beständigkeit zurückzuführen ist, die auch mittels Rasterelektronenmikroskopie gezeigt wurde (Abbildungen 25 und 26). Die organische Matrix im Dentin zersetzt sich im Laufe der Zeit.

Die Anwesenheit von Fluorapatit als Mineralphase der fossilen Haifischzähne konnte durch energiedispersive Röntgenspektren von *C. megalodon* und *O. obliquus* bestätigt werden (Abbildungen 27 und 28). Die intensivsten Signale lassen sich den Elementen Calcium, Phosphor, Sauerstoff und Fluor des Fluorapatits zuordnen, die auch mittels Elementaranalyse detektiert wurden (Tabelle 12). In den Spektren sieht man darüber hinaus, dass im Dentin von *C. megalodon* und *O. obliquus* kleinere Mengen an Schwefel vorhanden sind. Schwefel könnte möglicherweise während der Diagenese in das Dentin eingelagert worden sein.

Insgesamt ist die chemische Zusammensetzung von Enameloid in fossilen und rezenten Haifischzähnen vergleichbar.

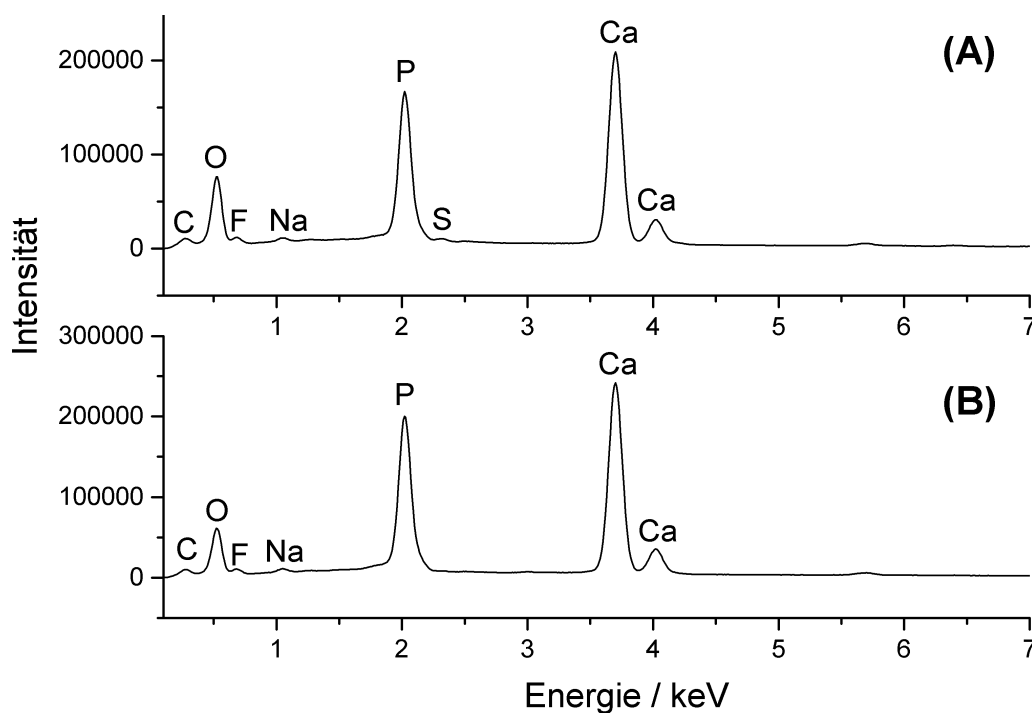


Abbildung 27: Energiedispersive Röntgenspektren von (A) *C. megalodon* Dentin und (B) *C. megalodon* Enameloid zeigen typische Signale für Fluorapatit.

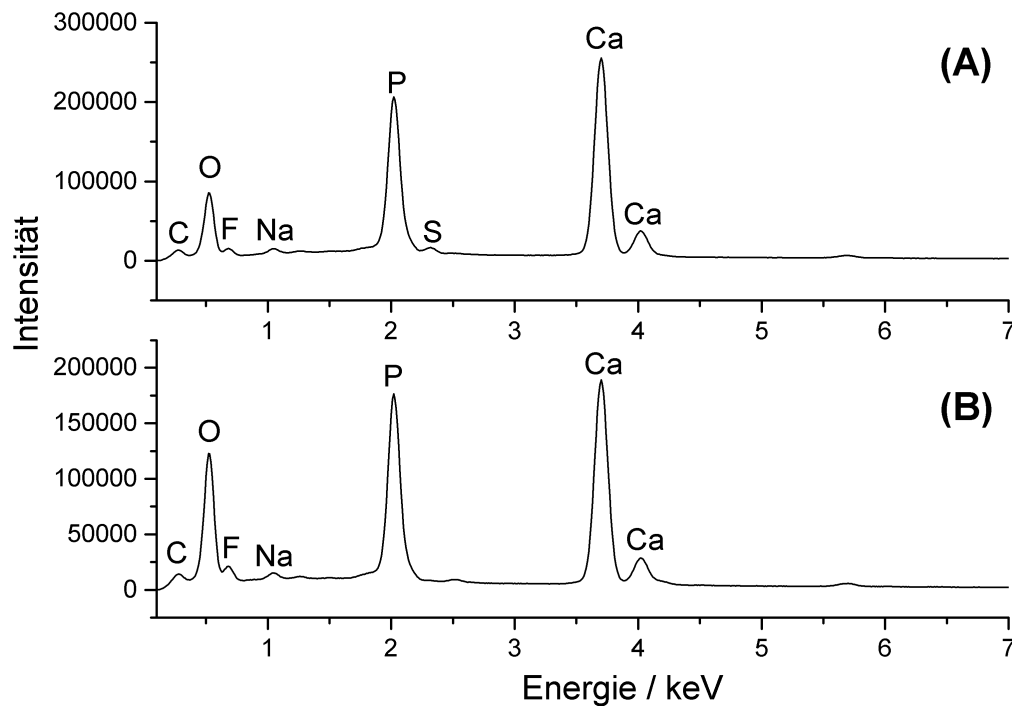


Abbildung 28: Energiedispersive Röntgenspektren von (A) *O. obliquus* Dentin und (B) *O. obliquus* Enameloid zeigen typische Signale für Fluorapatit.

Haifische verwenden demnach seit Millionen von Jahren Fluorapatit als Mineralphase für ihre Zähne.

Die Analyse mittels Röntgenpulverdiffraktometrie bestätigt, dass die fossilen Haifischzähne von *C. megalodon* und *O. obliquus* aus Fluorapatit bestehen. Für Dentin und Enameloid gibt es schmale Reflexe, die auf eine hohe Kristallinität deuten (Abbildung 29). Die Kristallinität von Dentin rezenter Haifischzähne ist deutlich geringer als die von fossilem Dentin. Die Zunahme der Kristallinität des Dentins ist wahrscheinlich auf den Diageneseprozess zurückzuführen. Die Ergebnisse der Röntgenpulverdiffraktometrie bestätigen zudem, dass sich während des Diageneseprozesses neben dem bereits vorhandenen Fluorapatit keine weiteren kristallinen Phasen gebildet haben.

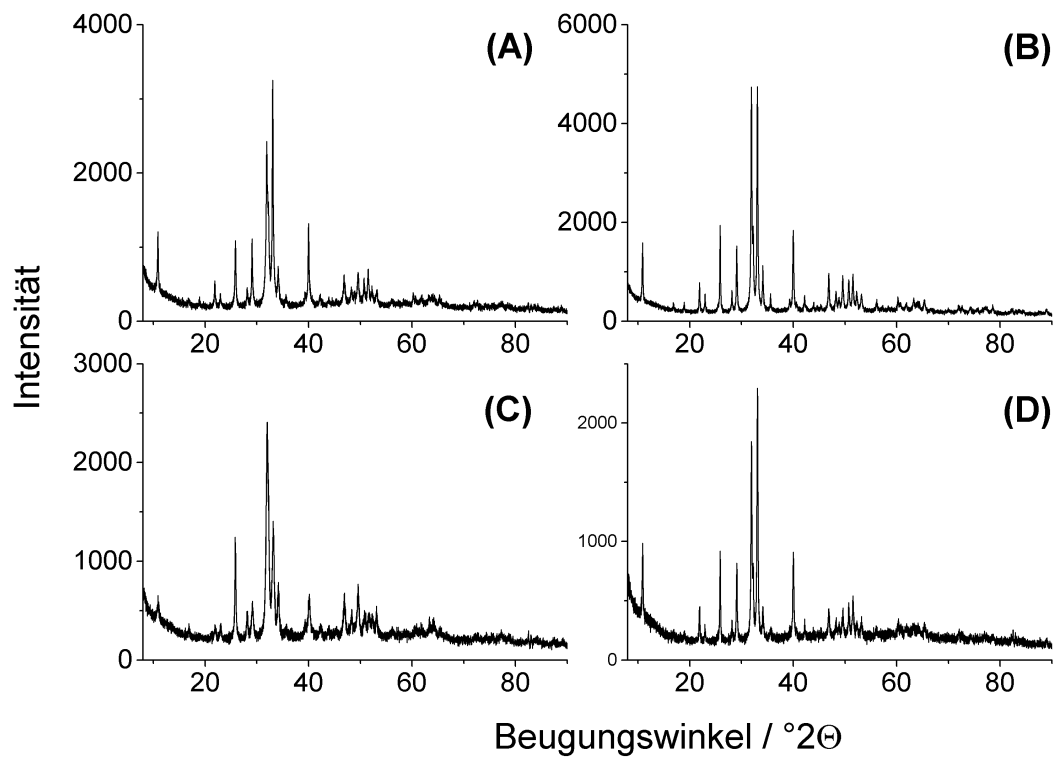


Abbildung 29: Röntgenpulverdiffraktogramme von (A) *C. Megalodon* Dentin, (B) *C. Megalodon* Enameloid, (C) *O. obliquus* Dentin und (D) *O. obliquus* Enameloid. Dentin und Enameloid zeigen jeweils scharfe Beugungsreflexe.

Die Gitterparameter von fossilem Enameloid sind vergleichbar mit denen von rezentem Enameloid (Tabelle 13). Im Vergleich zum Dentin von rezenten Haifischzähnen (a -Achse ca. 9,40 Å) ist die a -Achse von fossilem Dentin deutlich kleiner (ca. 9,37 Å). Dies lässt sich auf den höheren Einbau von Fluoridionen in das Apatit-Gitter zurückführen, was auch mittels chemischer Analysen bestätigt wurde (Tabelle 12).

Tabelle 13: Gitterparameter von Dentin und Enameloid von Zähnen von *C. megalodon* und *O. obliquus* im Vergleich zu einem geologischen Fluorapatit-Kristall.

		a -Achse/Å	c -Achse/Å	$V/\text{Å}^3$
<i>C. megalodon</i>	Dentin	9,3776(6)	6,8859(5)	524,42(8)
	Enameloid	9,3811(2)	6,8866(2)	524,85(3)
<i>O. obliquus</i>	Dentin	9,374(3)	6,904(2)	525,4(4)
	Enameloid	9,377(1)	6,885(1)	524,2(1)
Geologischer Fluorapatit- Kristall		9,37500(3)	6,88847(3)	524,319(4)

Kesmez *et al.* untersuchten mittels Röntgenbeugung und weiteren Methoden fossile Zähne des Weißen Hais, die 4, 12 und 40 Millionen Jahre alt waren. Zwischen den fossilen Zahnproben konnten keine signifikanten Unterschiede in den Pulverdiffraktogrammen festgestellt werden. Dentin und Enameloid zeigen beide eine vergleichbare Kristallinität. Auch die chemische Zusammensetzung, die mittels Röntgenphotoelektronenspektroskopie (engl.: *X-ray photoelectron spectroscopy*; XPS) erhalten wurde, ist vergleichbar und zeigt, dass alle Proben aus Fluorapatit bestehen. Das bedeutet, dass das Alter (4, 12 oder 40 Millionen Jahre) bei fossilen Haifischzähnen keinen signifikanten Einfluss auf die

kristallographischen Eigenschaften und die Zusammensetzung der Haifischzähne hat.^[28]

Die größten Unterschiede zwischen den fossilen Haifischzähnen und den rezenten Haifischzähnen liegen im Dentin. Das Dentin fossiler Zähne enthält sehr viel mehr Fluorid (Fluorapatit) als das Dentin rezenter Haifischzähne. Zudem besitzt das Dentin von fossilen Haifischzähnen eine höhere Kristallinität als das Dentin rezenter Haifischzähne.

Die IR-Spektren der fossilen Haifischzähne zeigen typische Apatit-Banden (Abbildung 30), die die Ergebnisse der chemischen Analysen bestätigen. Zusätzlich gibt es schwache C=O- und C-H-Banden, die auf die Anwesenheit organischer Moleküle in den fossilen Zähnen hinweisen. Die Intensität dieser Banden ist aber geringer als die in IR-Spektren von rezenten Haifischzähnen. Es wurde versucht, die (eventuell noch vorhandene) organische Matrix von *C. megalodon* Dentin mit deuterierten Chloroform zu extrahieren und dann mittels Kernspinresonanzspektroskopie (¹H-NMR- und ¹³C-NMR-Spektroskopie) zu untersuchen. Hier konnten aber keine messbaren Signale gefunden werden. Dies deutet darauf hin, dass der organische Anteil in fossilen Zähnen nur in Spuren vorhanden ist und nicht messbar ist. Möglicherweise haben sich die Reste der polymeren Matrix auch nur unzureichend in dem deuterierten Chloroform gelöst. Insgesamt sind die IR-Spektren der fossilen Haifischzähne sehr ähnlich zu denen rezenter Haifischzähne, d.h. dass die chemische Zusammensetzung sehr ähnlich ist. Überdies gibt es gute Übereinstimmungen zu den in der Literatur publizierten IR-Spektren von fossilen Haifischzähnen von *C. megalodon*, *I. hastalis*, *C. auriculatus*, *C. angustidens*, *O. obliquus* und *C. mantelli*.^[130]

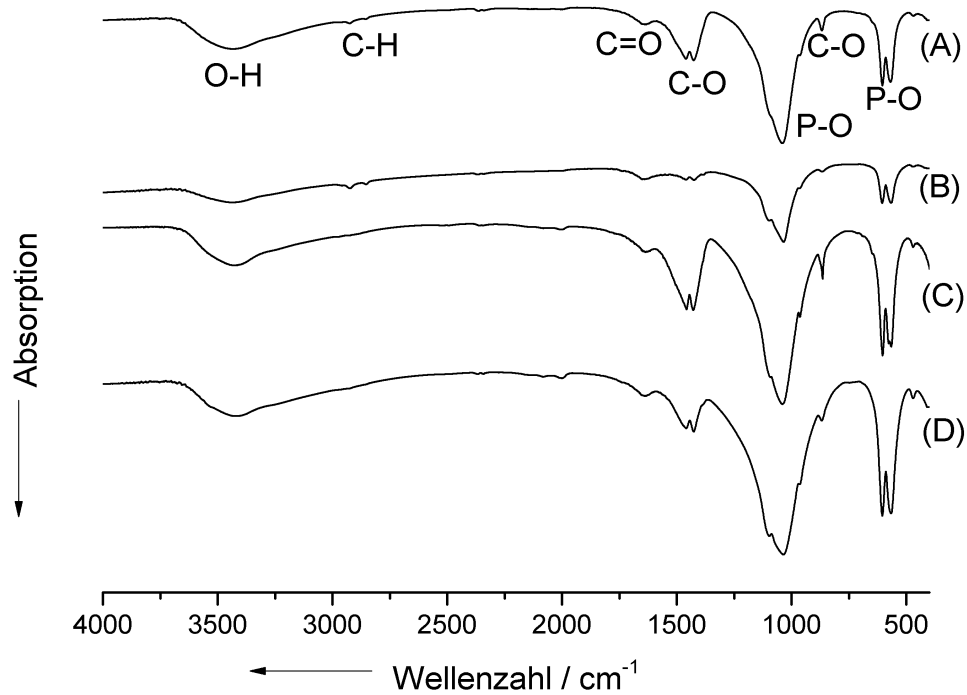


Abbildung 30: IR-Spektren von (A) *C. megalodon* Dentin, (B) *C. megalodon* Enameloid, (C) *O. obliquus* Dentin und (D) *O. obliquus* Enameloid, gekennzeichnet mit den für biologische Apatite charakteristischen Banden.

5.2.3 Kapitelzusammenfassung: Fossile Haifischzähne

Dentin und Enameloid von Zähnen zweier ausgestorbener Haifischspezies, *Carcharocles megalodon* (ca. 18 Mio. Jahre alt) und *Otodus obliquus* (ca. 60-45 Mio. Jahre alt), wurden strukturell und chemisch charakterisiert und mit rezenten Haifischzähnen verglichen.

Die Enameloid-Mikrostrukturen der fossilen Haifischzähne von *C. megalodon* und *O. obliquus* sind trotz ihres Alters sehr gut erhalten. Wie in rezenten Haifischzähnen gibt es unterschiedlich orientierte Kristallitbündel. Diese Kristallitbündel bestehen aus dicht gepackten, parallel zueinander orientierten Fluorapatit-Kristalliten. Die Form und Dimension der Fluorapatit-Kristallite innerhalb des Enameloids fossiler Haifischzähne ist vergleichbar mit denen im Enameloid rezenter Haifischzähne. Im Dentin fossiler Haifischzähne gibt es im Gegensatz zum Dentin rezenter Haifischzähne mineralische Substanzen, die sich möglicherweise während des Diageneseprozesses gebildet haben. Die chemischen Analysen zeigen, dass sowohl das Dentin als auch das Enameloid von fossilen Haifischzähnen aus Fluorapatit bestehen. Dentin und Enameloid haben eine vergleichbare chemische Zusammensetzung. Auch der Fluoridgehalt in beiden Gewebetypen ist sehr hoch (ca. 3 Gew%). Im Dentin rezenter Haifischzähne ist der Fluoridanteil viel geringer als im Dentin fossiler Haifischzähne. Die Röntgenpulverdiffraktogramme von Dentin und Enameloid zeigen jeweils schmale Beugungsreflexe, was auf eine vergleichbar Kristallinität der beiden Gewebetypen schließen lässt. Die Beugungsreflexe des Dentins rezenter Haifischzähne sind sehr viel breiter als die von Dentin fossiler Haifischzähne. Das bedeutet, dass die Nanokristallite des Dentins während der Diagenese zu größeren Kristalliten gewachsen sind.

Insgesamt haben Dentin und Enameloid von fossilen Haifischzähnen eine vergleichbare Zusammensetzung, was möglicherweise auf Rekristallisationsprozesse innerhalb des Dentins während der Diagenese zurückzuführen ist.

5.3 Charakterisierung von Krokodilzähnen

5.3.1 Mikrostrukturen von Dentin, Enamel und Wurzelzement

Ein typischer Zahn der Krokodilspezies *Crocodylus porosus* hat eine kegelförmige Zahnspitze und eine hohle zylindrische Wurzel (Abbildung 31). Die exakte Größe einzelner Zähne variiert je nach Alter und Größe des jeweiligen Tieres.

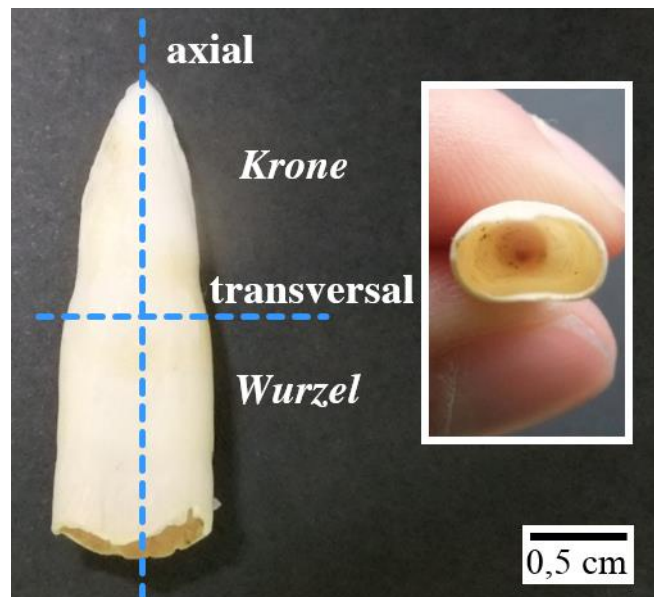


Abbildung 31: Foto eines typischen Zahns eines Leistenkrokodils (*C. porosus*), mit einem Blick in die hohle Wurzel. Die Konventionen von axial und transversal sind eingefügt.

Der Grenzbereich von Dentin und Enamel ist durch den Dentin-Enamel-Übergang markiert und in den rasterelektronenmikroskopischen Aufnahmen sichtbar (Abbildungen 32A,B und 32A). Der Dentin-Enamel-Übergang ist auch in humanen Zähnen vorhanden.^[25, 131] Krokodilzahn-Enamel ist ca. 100-200 μm dick (Abbildung 33A). Die Dicke des Enamels nimmt zur Wurzel hin ab. In dem Übergangsbereich zwischen Krone und Wurzel liegt eine sehr dünne Wurzelzementschicht über dem Enamel (Abbildung 32A).

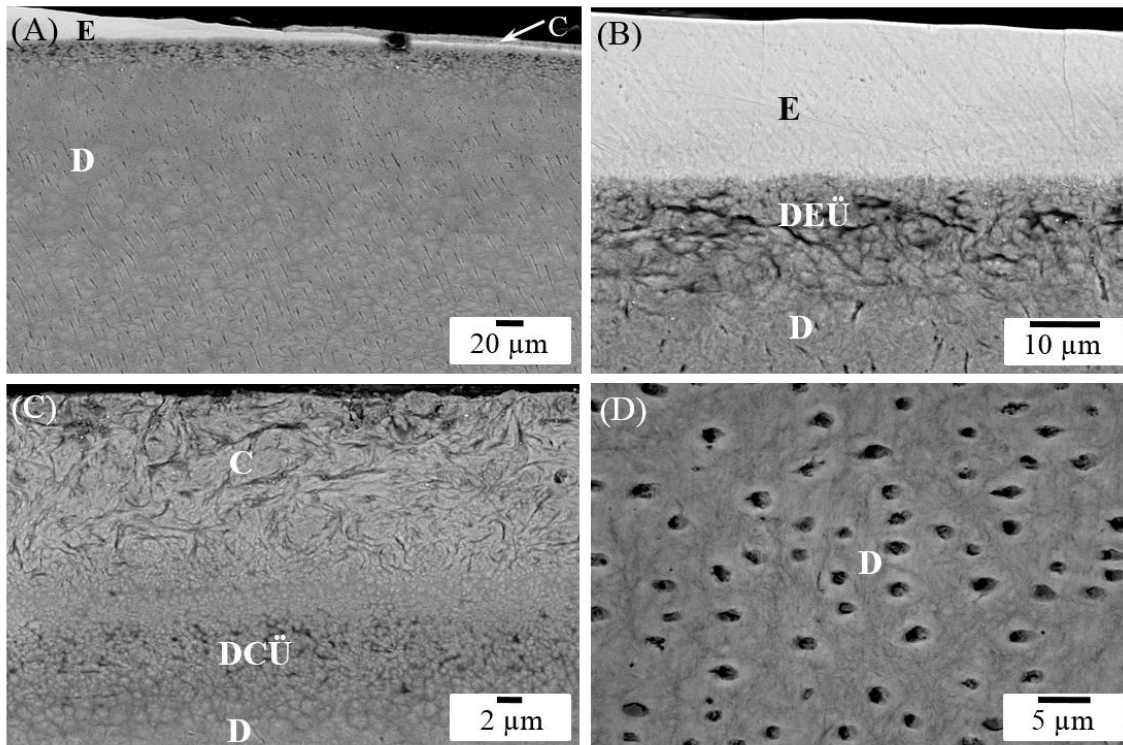


Abbildung 32: Rasterelektronenmikroskopische Aufnahmen einer polierten Zahnoberfläche von *C. porosus* im Rückstreuelektronen-Modus. (A) Übersicht über den Dentin-Enamel-Übergang, (B) Dentin-Enamel-Übergang in höherer Vergrößerung, (C) Dentin-Wurzelzement-Übergang und (D) Dentin mit den Dentintubuli (D: Dentin, E: Enamel, C: Wurzelzement, DEÜ: Dentin-Enamel-Übergang, DCÜ: Dentin-Wurzelzement-Übergang).

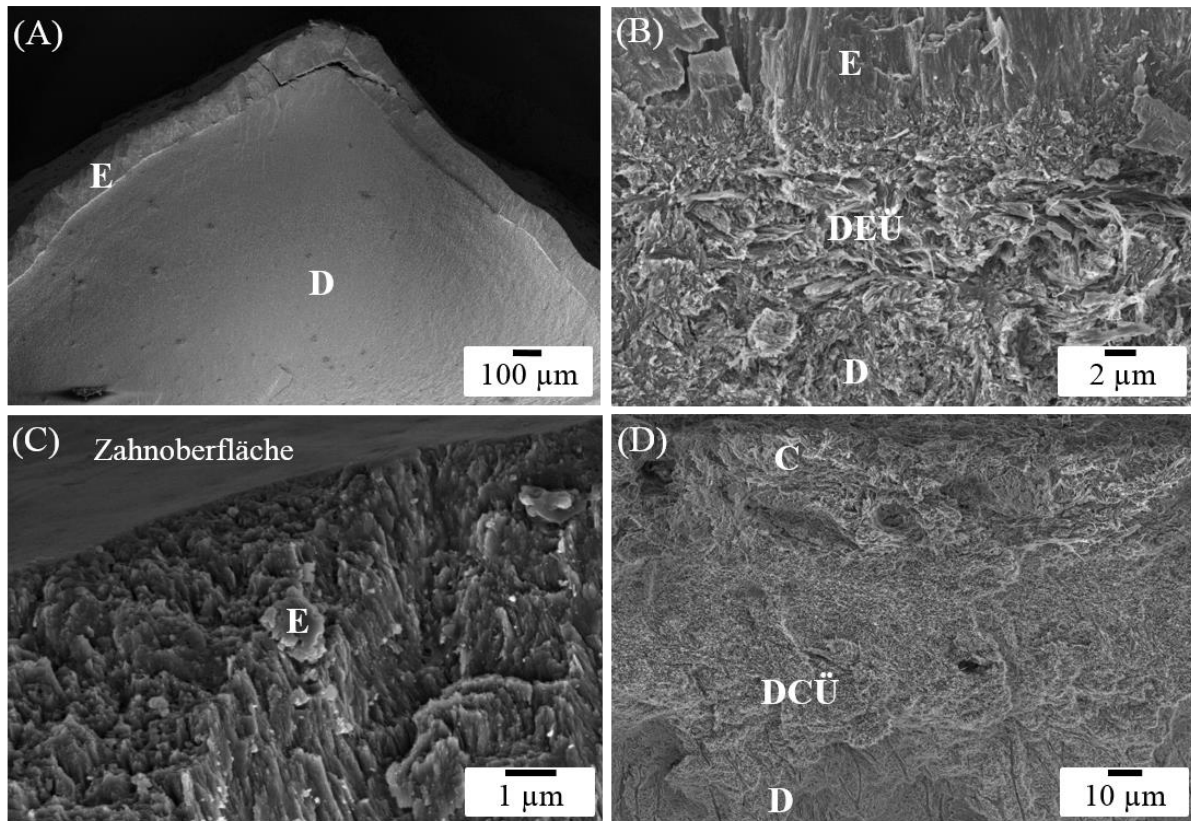


Abbildung 33: Rasterelektronenmikroskopische Aufnahmen von gebrochenen Zahnproben von *C. porosus*. (A) Überblick über eine axial gebrochene Zahnspitze zeigt eine deutliche Abgrenzung zwischen Dentin und der dünnen Enamelschicht. (B) Die Mikrostruktur des Dentin-Enamel-Übergangs in höherer Vergrößerung, (C) Kristallite des Enamels, die parallel zueinander orientiert sind. (D) Die Mikrostruktur des Dentin-Wurzelzement-Übergangs (D: Dentin, E: Enamel, C: Wurzelzement, DEÜ: Dentin-Enamel-Übergang, DCÜ: Dentin-Wurzelzement-Übergang).

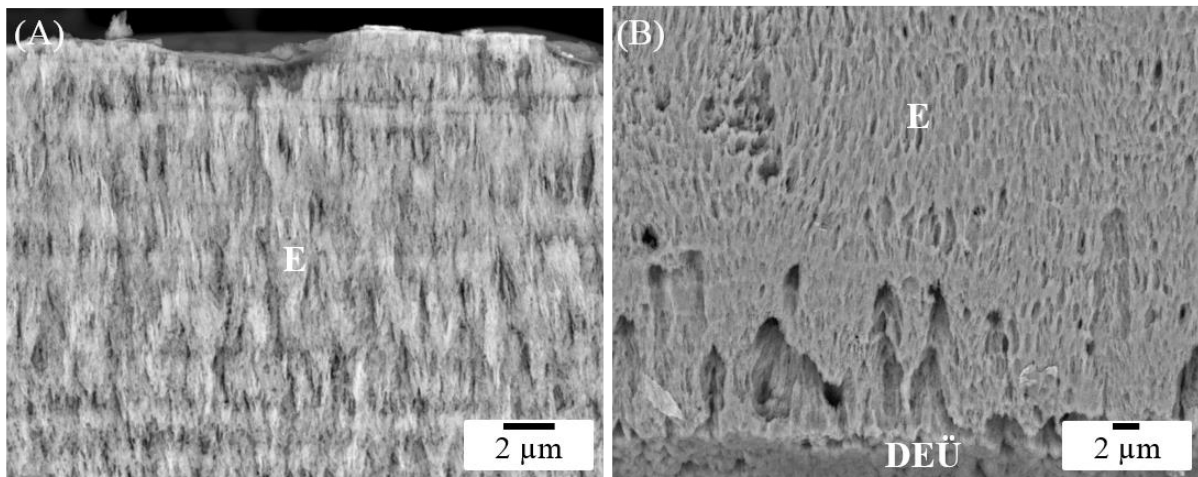


Abbildung 34: Rasterelektronenmikroskopische Aufnahmen einer mit EDTA behandelten Enamel-Oberfläche von *C. porosus* im Rückstreuelektronen-Modus. (A) Die äußerste Enamelschicht besteht aus nadelförmigen Kristalliten, die alle senkrecht zur Zahnoberfläche orientiert sind. (B) In der Nähe des Dentin-Enamel-Übergangs sind die Kristallite weiterhin sichtbar, allerdings gibt es Hohlräume und die Packung der Kristallite ist nicht mehr so dicht. (E: Enamel, DEÜ: Dentin-Enamel-Übergang).

Rasterelektronenmikroskopische Aufnahmen von gebrochenen Zahnproben zeigen, dass das Enamel aus kleinen, länglichen Kristalliten besteht, die parallel zueinander und senkrecht zur Zahnoberfläche orientiert sind (Abbildungen 33C und 34). Dieser Enamel-Typ wird deshalb in der Literatur als "*parallel crystallite enamel*" bezeichnet.^[51] Die Kristallite sind dicht gepackt, und deshalb ist die genaue Form einzelner Kristallite nur sehr schwer zu identifizieren. Demineralisationsexperimente mit EDTA an Enameloberflächen zeigen, dass es sich um nadelförmige Kristallite mit einer Länge von einigen Mikrometern handelt. Dabei sind keine definierten Kristallitbündel, wie sie z.B. in humanen Zähnen oder Haifischzähnen vorliegen, sichtbar. Humanes Enamel besteht aus Kristallitbündeln (Enamel-Prismen),^[3, 32, 132] die hierarchisch organisiert sind und somit für die hervorragende Bruchfestigkeit des Enamels verantwortlich sind.^{[24,}

133]

Am Dentin-Enamel-Übergang sinkt die Packungsdichte der Kristallite von einem geordneten Zustand im Enamel in einen ungeordneten Zustand im Dentin (Abbildungen 32B und 33B). In diesem Übergang gibt es auch einen großen Anteil an ungeordneten organischen Fasern. Im Wurzelzement gibt es keine regelmäßig angeordneten Kristallite wie im Enamel. Der Wurzelzement besteht hauptsächlich aus ungeordneten organischen Fasern (Abbildung 33D). Der Dentin-Wurzelzement-Übergang ist nicht so klar abgegrenzt wie der Dentin-Enamel-Übergang. Wie humane Zähne^[23] enthält auch das Dentin Mikrometer-große Dentintubuli (Abbildung 33D).

Insgesamt ist die hier vorgestellte Mikrostruktur des Enamels von *C. porosus* vergleichbar mit der des *Alligator mississippiensis*.^[134]

5.3.2 Chemische und kristallographische Zusammensetzung

Die chemische Analyse der Krokodilzähne zeigt, dass das Enamel mehr Calcium und Phosphat, aber weniger Magnesium als das Dentin enthält (Tabelle 14).

Tabelle 14: Chemische Zusammensetzung von Dentin, Enamel und Wurzelzement von Zähnen von *C. porosus* im Vergleich zu Dentin und Enamel humaner Zähne.

	<i>C. porosus</i>			Humane Zähne (LeGeros ^[6])	
	Dentin	Enamel	Wurzel- zement	Dentin	Enamel
Ca ²⁺	20,56	28,56	23,01	27,0	36,0
PO ₄ ³⁻	38,80	44,05	32,95	39,9	54,3
Ca/P molar	1,26:1	1,55:1	1,65:1	1,60:1	1,57:1
(Ca+Mg)/P molar	1,51:1	1,63:1	1,74:1	1,72:1	1,60:1
Na ⁺	0,78	1,01	--	0,3	0,5
Mg ⁺	2,47	1,10	0,75	1,1	0,44
F ⁻	0,06	0,09	0,21	0,05	0,01

Natrium wurde in Dentin und Enamel nachgewiesen, nicht aber im Wurzelzement. Der Fluoridgehalt in Krokodilzähnen ist insgesamt sehr gering und liegt < 1 Gew% und ist somit vergleichbar mit humanen Zähnen.^[6, 60] Der Wurzelzement enthält signifikant mehr Fluorid als Dentin und Enamel. Der Anteil an Magnesium ist sehr hoch und wurde deshalb in das molare Verhältnis (Ca+Mg)/P der Mineralphase einbezogen. In allen Gewebetypen wurde die Stöchiometrie eines Calcium-defizitären Hydroxylapatits gefunden, d.h. etwa $n(\text{Ca+Mg}):n(\text{P})=1,67:1$.^[135] Insgesamt sind die Ergebnisse der chemischen Analysen vergleichbar mit denen von Dauphin und Williams, die rezente Reptilienzähne untersuchten.^[136-137]

Die Diffraktogramme von Dentin, Enamel und Wurzelzement zeigen die typischen Reflexe für Hydroxylapatit (Abbildung 35).

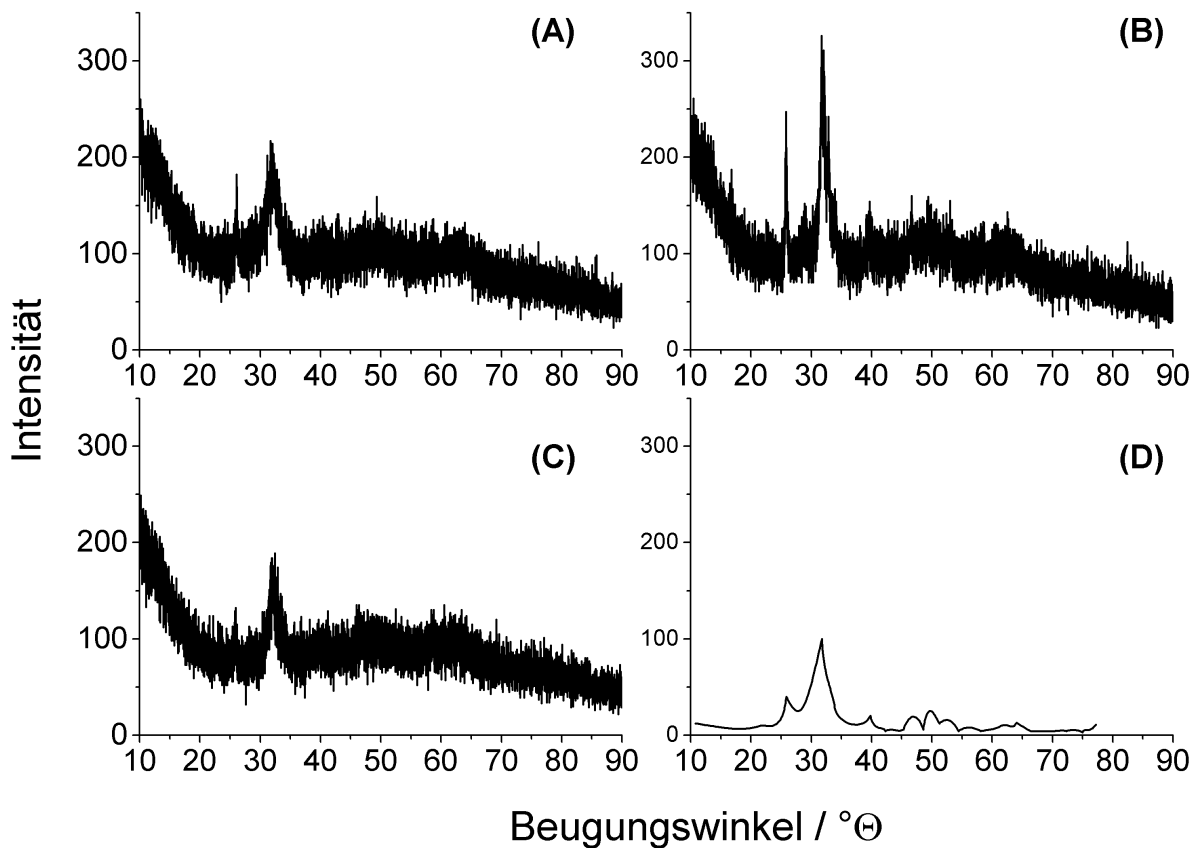


Abbildung 35: Röntgenpulverdiffraktogramme von (A) Dentin, (B) Enamel und (C) Wurzelzement von *C. porosus* im Vergleich zu einem reinen nanokristallinen Hydroxylapatit (#9-0432 aus der ICDD-Datenbank). Alle Röntgenpulverdiffraktogramme zeigen breite Beugungsreflexe, die auf einen nanokristallinen Hydroxylapatit hinweisen.

Die Röntgenpulverdiffraktogramme von Dentin und Enamel zeigen breite Reflexe, was auf eine vergleichbare Größe der kristallinen Domänen zwischen den Gewebetypen schließen lässt. Dies ist erstaunlich, da die Apatit-Kristallite in humanen Enamel größere kristalline Domänen haben, als die Apatit-Nanokristallite im Dentin.^[119, 138] Die Ergebnisse der Röntgenpulverdiffraktometrie wurden durch die rasterelektronenmikroskopischen Aufnahmen bestätigt. Krokodilzahn-Enamel besitzt keine komplexe Mikrostruktur und keine definierten Kristallitbündel, sondern besteht aus einzelnen nadelförmigen Kristalliten.

Die durchschnittliche Größe der kristallinen Domänen beträgt ca. 8-9 nm, wobei sich die Gitterparameter von Dentin, Enamel und Wurzelzement nur geringfügig unterscheiden (Tabelle 15).

Tabelle 15: Kristallographische Eigenschaften der Mineralphase von Dentin, Enamel und Wurzelzement von Zähnen von *C. porosus* verglichen mit einem geologischen Hydroxylapatit, humanen Zähnen (Dentin und Enamel) und Haifischzähnen (Dentin und Enameloid). Die Standardabweichung ist jeweils in Klammern angegeben.

Probe	<i>a</i> -Achse/Å	<i>c</i> -Achse/Å	<i>V</i> /Å ³	Größe der kristallinen Domänen / nm
<i>C. porosus</i> Dentin	9,43(1)	6,857(9)	528(2)	9
<i>C. porosus</i> Enamel	9,451(8)	6,883(7)	532(1)	8
<i>C. porosus</i> Wurzel- zement	9,409(8)	6,873(6)	527(1)	8
Geologischer Hydroxyl- apatit ^[117]	9,4249(4)	6,8838(4)	529,56	--
Humanes Dentin ^[6]	9,41(3)	6,887(3)	529,3	--
Humanes Enamel ^[6]	9,441(3)	6,880(3)	531,1	--

Insgesamt sind die Gitterparameter von Krokodilzähnen sehr ähnlich zu denen von humanen Zähnen und einem geologischen Hydroxylapatit und bestätigen damit die Anwesenheit von Apatit. Die geringen Abweichungen in den Gitterparametern von Dentin, Enamel und Wurzelzement kann durch den Einbau unterschiedlicher Mengen von Fremdionen (z.B. Mg^{2+} und Na^+) in die Apatit-Struktur erklärt werden (Tabelle 14), was typisch für biologische Apatite ist.^[6, 137] Magnesium als Substituent ist bekannt dafür, die Kristallinität von Apatiten zu verringern, während Natrium keinen signifikanten Einfluss zeigt.^[119] Besonders Magnesium hat einen starken Einfluss auf die Kristallinität. Apatite mit hohen Magnesiumanteilen sind amorph.^[139]

Erhitzt man die Proben auf 750 °C, so bildet sich eine Mischung aus Hydroxylapatit und β -Tricalciumphosphat, $\beta\text{-Ca}_3(\text{PO}_4)_2$, in vergleichbaren Mengen, was auf die Anwesenheit eines Calcium-defizitären Hydroxylapatit vor dem Erhitzen schließen lässt.^[135]

Die IR-Spektren zeigen Absorptionsbanden, die für biologische Apatite charakteristisch sind (Abbildung 36).

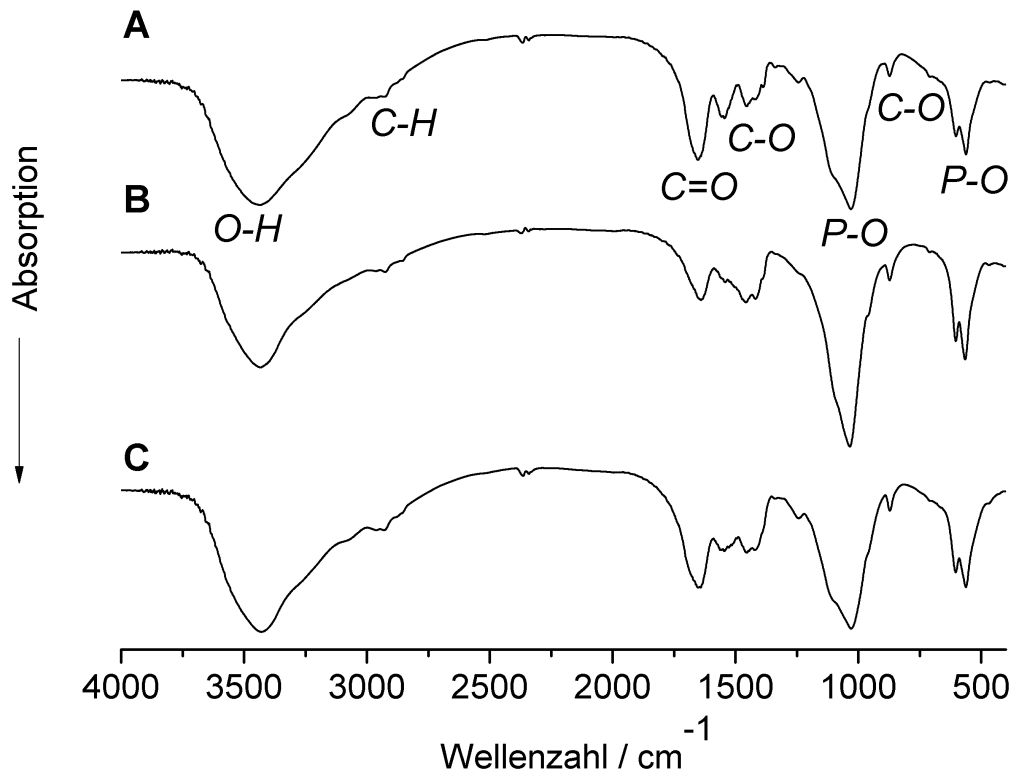


Abbildung 36: IR-Spektren von (A) Dentin, (B) Enamel und (C) Wurzelzement von Zähnen von *C. porosus*, gekennzeichnet mit den für biologische Apatite charakteristischen Banden.

Die Banden können Phosphat ($490\text{--}640\text{ cm}^{-1}$ und $900\text{--}1220\text{ cm}^{-1}$), Carbonat (875 cm^{-1} und $1360\text{--}1590\text{ cm}^{-1}$) und Wasser ($3010\text{--}3660\text{ cm}^{-1}$) zugeordnet werden. Zusätzliche Banden, die auf die Anwesenheit einer organischen Matrix schließen lassen, liegen bei 2940 cm^{-1} (C-H) und $1600\text{--}1700\text{ cm}^{-1}$ (C=O). Die C=O-Bande (bzw. Amid I von Proteinen) von Dentin und Wurzelzement ist intensiver als die des Enamels, was auf einen höheren Anteil an organischer Matrix hindeutet. Die IR-Spektren sind sehr ähnlich zu denen von humanen Zähnen^[6] und von synthetischen Hydroxylapatit.^[140]

Thermogravimetrische Messungen von Dentin, Enamel und Wurzelzement zeigen im Wesentlichen drei Regionen des Masseverlusts: Freisetzung von Wasser ($< 200\text{ °C}$), Abbrand der organischen Bestandteile ($200\text{--}500\text{ °C}$) und

schließlich die Freisetzung von CO_2 aus dem Carbonat-Apatit ($> 500\text{ }^\circ\text{C}$) (Abbildung 37).^[6, 118]

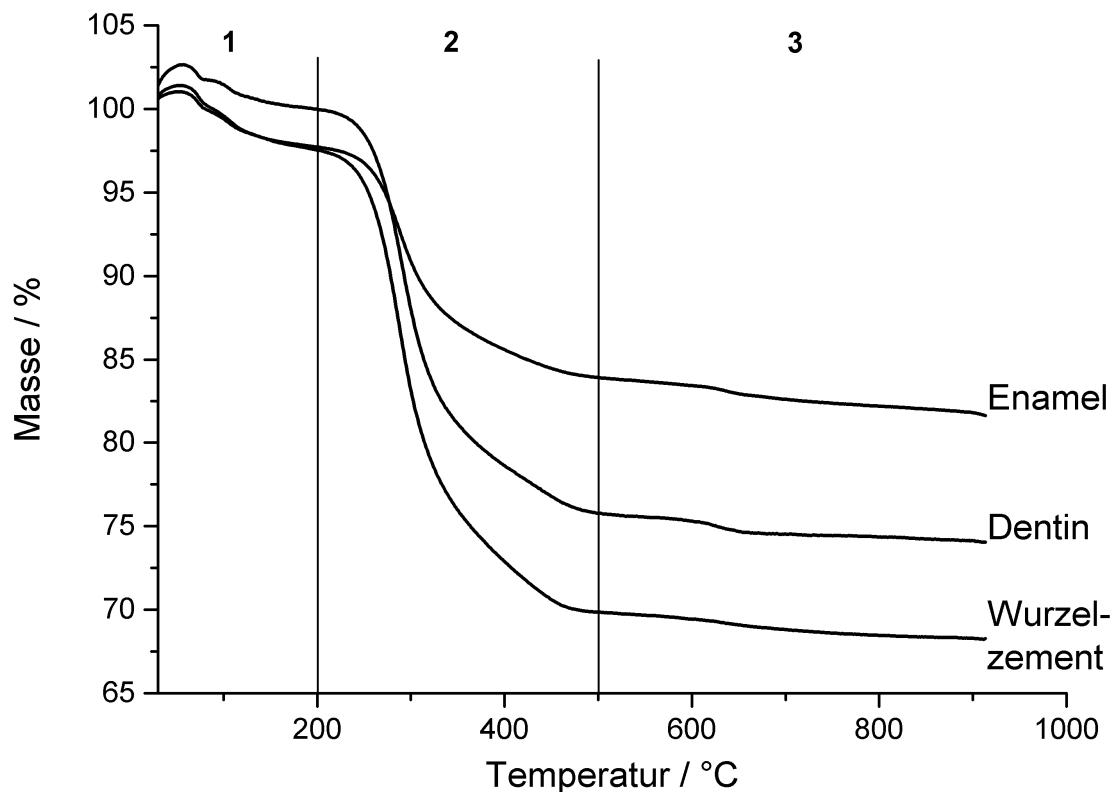


Abbildung 37: Thermogravimetrische Messkurven von Dentin, Enamel und Wurzelzement von Zähnen von *C. porosus*: (1) Freisetzung von Wasser ($< 200\text{ }^\circ\text{C}$), (2) Abbrand von organischen Bestandteilen ($200\text{--}500\text{ }^\circ\text{C}$) und (3) Freisetzung von CO_2 aus dem Carbonat-Apatit ($> 500\text{ }^\circ\text{C}$). Enamel hat den größten Mineralanteil, gefolgt von Dentin und dem Wurzelzement.

Enamel hat einen höheren Mineralanteil als Dentin und Wurzelzement (Tabelle 16).

Tabelle 16: Auswertungen der thermogravimetrischen Messkurven von Dentin, Enamel und Wurzelzement von Zähnen von *C. porosus* (siehe auch die thermogravimetrischen Messkurven in Abbildung 37).

	Dentin	Enamel	Wurzelzement
	/ Gew%	/ Gew%	/ Gew%
< 200 °C	2,7	3,3	3,9
200-500 °C	24,2	13,8	27,7
> 500 °C	1,8	2,4	1,6
Mineralische Bestandteile (Rest)	71,3	80,5	66,8

Der Wurzelzement hat einen geringeren Mineralanteil als das Dentin. Der Anteil an Wasser ist vergleichbar in allen drei Gewebetypen, wobei der exakte Anteil von Wasser innerhalb der Zähne auch von den Lagerungsbedingungen abhängig ist (die für diese Studie verwendenden Zähne wurden bei Raumtemperatur gelagert). Die thermogravimetrische Analyse von humanen Dentin zeigt ähnliche Ergebnisse, wie hier für Krokodilzahn-Dentin.^[141]

5.3.3 Strukturuntersuchungen mittels Mikrocomputertomographie

Analysen mittels Synchrotron-Mikrocomputertomographie (SR μ CT) zeigen die exakte Geometrie des Zahns und die Lage der unterschiedlichen Gewebetypen innerhalb des Zahns (Abbildung 38).

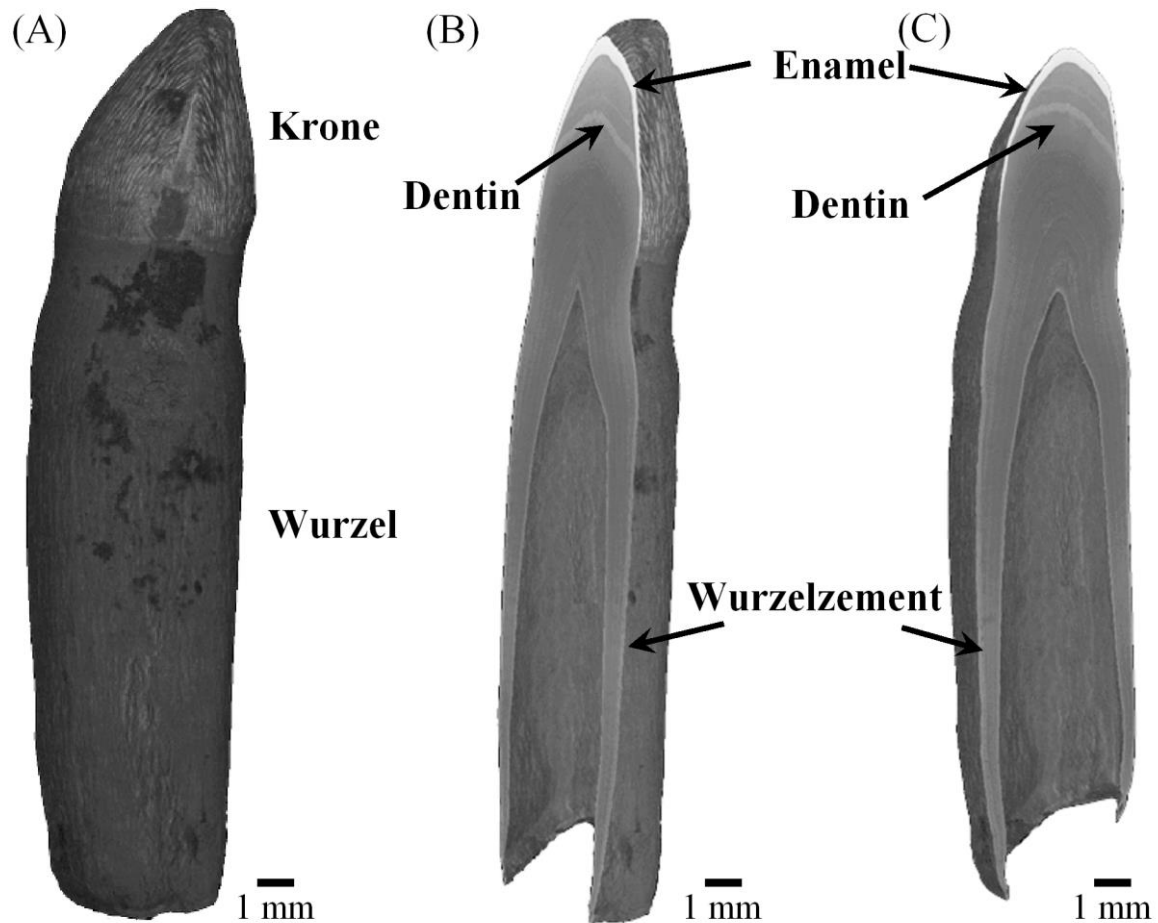


Abbildung 38: Abbildungen, die mittels Mikrocomputertomographie erstellt wurden: (A) Der gesamte Zahn und (B,C) zwei virtuelle axiale Schnitte durch einen Zahn von *C. porosus*. Man erkennt einen deutlichen Unterschied in den Grauwerten zwischen Dentin (dunkel) und Enamel (hell).

Die Enamel-Schicht (weiße Farbe) ist sehr dünn und erreicht ihre maximale Dicke an der Zahnspitze. Auf Basis der mikrocomputertomographischen Abbildungen ist die Unterscheidung von Dentin und dem Wurzelzement aufgrund einer ähnlichen Röntgenabsorption nur sehr schwer möglich.

Die Grauwerte von Dentin, Enamel, und Wurzelzement wurden ausgewertet (Abbildung 39).

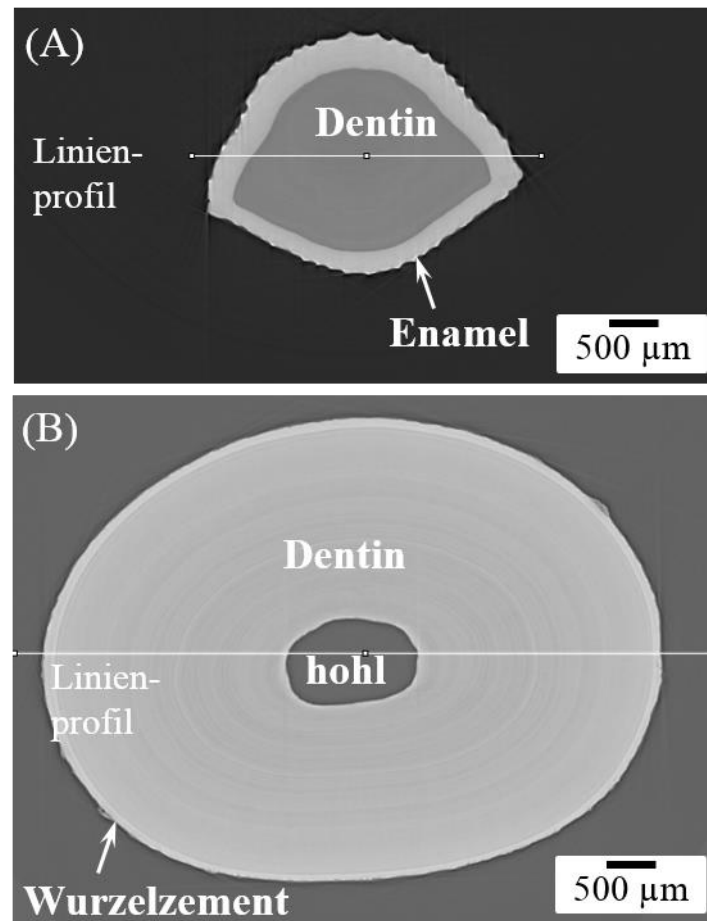


Abbildung 39: Linienprofil der Grauwerte von transversalen, virtuellen Schnitten von Zähnen von *C. porosus*: (A) Repräsentativer virtueller Schnitt durch die Krone (mit Dentin und Enamel) und (B) Schnitt durch die Wurzel (mit Dentin und Wurzelzement).

Die Auswertung der Grauwerte liefert einen Hinweis auf den Grad der Mineralisierung der einzelnen Gewebetypen (Abbildung 40). Enamel besitzt einen höheren Grauwert (ca. 2,8) als das Dentin (ca. 1,8). Das Dentin der Wurzel hat einen geringeren Grauwert (ca. 1,3) als das Dentin der Krone. Der Wurzelzement hat einen etwas geringeren Grauwert als das Dentin der Wurzel (Abbildung 40).

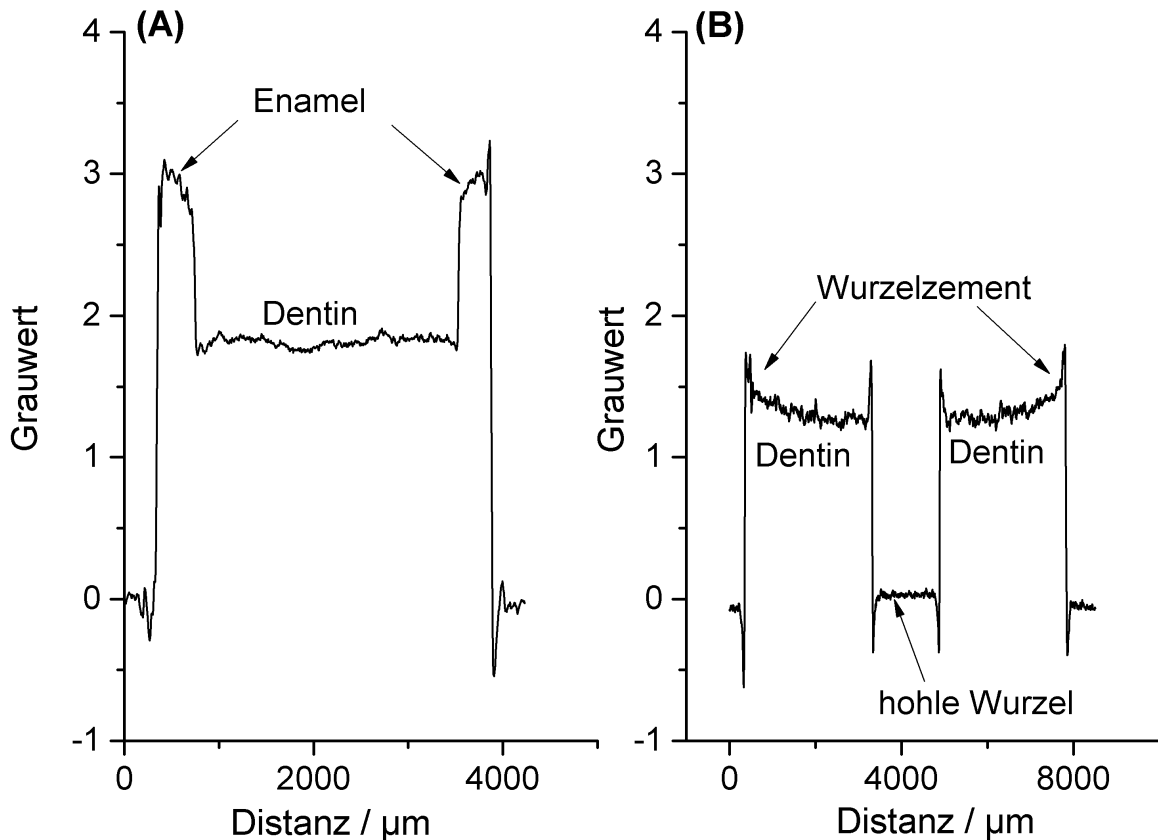


Abbildung 40: Auswertung der Grauwerte von zwei virtuellen, transversalen Schnitten durch einen Zahn von *C. porosus* (siehe auch Abbildung 39). Linienprofil der Grauwerte (A) durch die Krone und (B) durch die Wurzel. Die Grauwerte von Enamel sind deutlich höher als die von Dentin und Wurzelzement.

5.3.4 Vickers-Mikrohärte

Repräsentative Vickers-Mikrohärtetests wurden an unterschiedlichen Positionen auf polierten Zahnproben von *C. porosus* durchgeführt. Für eine bessere Vergleichbarkeit wurde die Härtewerte in Berkovich-Härten umgerechnet (Tabelle 17).

Tabelle 17: Ergebnisse der Vickers-Mikrohärtemessungen (HV0,01) von Dentin, Enamel und Wurzelzement von Zähnen von *C. porosus* im Vergleich zu humanen Zähnen (Dentin und Enamel) und Haifischzähnen (Dentin und Enameloid); k.A.: keine Angaben.

	<i>H</i> / GPa	<i>H</i> / GPa	<i>H</i> / GPa
	Krokodilzähne	Humane Zähne	Haifischzähne
Dentin	0,60±0,05	0,5-0,6 ^[126]	0,5-0,7
Enamel(oid)	3,15±0,15	2,9-3,9 ^[126]	3-4
Wurzelzement (nahe der Krone)	0,26±0,08	0,2-0,6 ^[142]	k.A.
Wurzelzement (nahe dem Wurzelende)	0,31±0,04	k.A.	k.A.

5.3.5 Korrelation der Analysen mit der Funktion der Zähne

Die Struktur und Zusammensetzung von Krokodilzähnen ist optimal an ihre Funktion angepasst. Krokodile verwenden ihre Zähne überwiegend zum Halten und Sichern der Beute, aber nicht zum Kauen. Deshalb besitzt der Krokodilzahn nur eine dünne Enamelschicht (100-200 µm), im Vergleich zum Enamel von Säugetieren (bis 5 mm).^[143] Krokodile zeigen besonders hohe Bisskräfte.^[30] Eine Beschädigung der Zähne kann beispielsweise durch das Beißen auf Knochen des Beutetiers hervorgerufen werden. Deshalb gibt es eine dickere Enamelschicht an der Zahnspitze, was mittels Mikrocomputertomographie gezeigt wurde. Des Weiteren sind die Zähne im Gebiss so angeordnet, dass sie sich nicht treffen, wenn ein Biss die Beute nicht treffen sollte.

5.3.6 Kapitelzusammenfassung: Krokodilzähne

Struktur, chemische Zusammensetzung und die lokalen mechanischen Eigenschaften von Zähnen des Salzwasserkrokodils *Crocodylus porosus* wurden analysiert. Messungen mittels Röntgenpulverdiffraktometrie in Kombination mit Elementaranalytik und IR-Spektroskopie zeigen, dass die drei vorliegenden Gewebetypen, d.h. Dentin, Enamel und Wurzelzement, aus einem Calcium-defizitären, nanokristallinen Hydroxylapatit bestehen. Der Fluoridgehalt ist in allen drei Gewebetypen sehr gering ($< 0,1$ Gew%) und vergleichbar mit dem in humanen Zähnen. Der Mineralanteil in Dentin, Enamel und Wurzelzement wurde mittels Thermogravimetrie bestimmt und beträgt jeweils 71,3, 80,5 und 66,8 Gew%. Mittels Synchrotron-Mikrocomputertomographie wurde die interne Struktur der Zähne visualisiert und der Grad der Mineralisierung der unterschiedlichen Gewebetypen über die Auswertung der Grauwerte abgeschätzt. Enamel zeigt die höchsten Grauwerte, gefolgt von Dentin und Wurzelzement. Virtuelle Schnitte durch den Zahn und rasterelektronenmikroskopische Aufnahmen zeigen, dass die Enamelschicht, im Vergleich zu humanen Zähnen und Haifischzähnen, sehr dünn ist (100-200 μm). Die Kristallite im Enamel sind senkrecht zur Zahnoberfläche orientiert, wobei die Kristallite nicht in Bündeln organisiert sind. In der Nähe des Dentin-Enamel-Übergangs sinkt die Packungsdichte der Kristallite, und die Kristallite liegen nicht mehr geordnet vor wie im Enamel. Die Mikrohärtigkeit beträgt $0,60 \pm 0,05$ GPa für das Dentin, $3,15 \pm 0,15$ GPa für das Enamel und $0,31 \pm 0,04$ GPa für den Wurzelzement nahe der Zahnkrone. Dies kann auf den unterschiedlichen Mineralisierungsgrad der einzelnen Gewebetypen zurückgeführt werden.

Zusammenfassend ist die Struktur und Zusammensetzung der Krokodilzähne optimal an ihre Funktion angepasst. Krokodile verwenden ihre Zähne hauptsächlich zum Fixieren der Beute, nicht aber zum Beißen oder Kauen der Beute. Somit ist keine dicke Enamelschicht notwendig und die Mikrostruktur ist weniger komplex im Vergleich zu humanen Zähnen und Haifischzähnen.

5.4 Darstellung und Charakterisierung von biomimetischen Fluorapatit/Polymer-Kompositen

5.4.1 Herausforderungen für biomimetische Dentalkomposite

Ein ideales Modellsystem für die Entwicklung von biomimetischen Zahnersatzmaterialien ist das Enameloid des Haifischzahns. Wie in Kapitel 5.1 beschrieben, besitzt es im Gegensatz zum Krokodilzahn eine komplexe Mikrostruktur, die für die hervorragenden mechanischen Eigenschaften und die Bruchfestigkeit der Zähne verantwortlich ist. Zudem besteht es aus Fluorapatit-Kristalliten, die man synthetisch gut in unterschiedlichen Kristallit-Morphologien darstellen kann.^[64-65]

Basierend auf der Strukturhierarchie von Haifischzähnen (siehe Kapitel 5.1.3) ist es möglich, Inspirationen von einzelnen Hierarchiestufen für biomimetische Materialien zu erhalten.

Aufgrund der zunehmenden Komplexität mit steigendem Hierarchielevel ist eine biomimetische Nachbildung der höheren Hierarchiestufen ab Level 4, d.h. eine komplexe hierarchische Anordnung von unterschiedlich orientierten Fluorapatit-Kristallitbündeln, schwer in ein biomimetisches Material umsetzbar.

Somit konzentriert sich diese Arbeit auf die Nachbildung der unteren Hierarchiestufen von Haifischzähnen (bis Level 3, d.h. Bündel von Fluorapatit-Kristalliten in Kombination mit einer organischen Matrix). Auch die Nachbildung der unteren Hierarchielevel würde, umgesetzt in einem synthetischen Dentalkomposit, Vorteile gegenüber konventionellen Zahnersatzmaterialien haben (siehe Kapitel 2.3).

Im Hinblick auf die Entwicklung biomimetischer Komposite, basierend auf den Eigenschaften von Haifischzahn-Enameloid, wurden einige wichtige Charakteristika herausgearbeitet, die in einem synthetischen Komposit umgesetzt werden sollen (Tabelle 18).

Das Mineral in Haifischzähnen ist Fluorapatit, das synthetisch dargestellt werden kann.^[64-65, 144] Ziel ist es, die Fluorapatit-Kristallite so darzustellen, dass sie der Form und der Größe der Kristallite im Enameloid möglichst nahe kommen.

Nach der Synthese der Fluorapatit-Kristallite müssen diese angeordnet werden. Hierfür wurden Ultrazentrifugation und ein kontrolliertes Wachstum auf Substraten getestet. Die Verwendung der Ultrazentrifugation hat im Vergleich zur Sedimentation durch die natürliche Schwerkraft den Vorteil, dass aufgrund der höheren Kräfte eine dichtere Packung der Fluorapatit-Stäbchen erhalten werden kann.

Die organische Matrix im Enameloid von Haifischzähnen ist sehr komplex und besteht im Wesentlichen aus Kollagenen, Enamelinen und weiteren Proteinen.^[111-113] Zudem ist die Bildung des Enameloids ein sehr komplexer Vorgang, an dem unterschiedliche Zellen beteiligt sind.^[45]

In der hier vorliegenden Arbeit soll eine synthetisch einfach durchzuführende Darstellung der Komposite vorgestellt werden.

Hierfür wird eine synthetische Polymermatrix benötigt, die biokompatibel ist und einfach dargestellt werden kann. Deshalb wurde eine auf Polymethylmethacrylat (PMMA) basierte Polymermatrix verwendet, welche durch eine radikalische Polymerisation der entsprechenden Monomeren (Methylmethacrylat u.a.) synthetisch gut zugänglich ist. Ziel ist die Verwendung eines möglichst geringen Anteils an Polymermatrix, um einen möglichst hohen Mineralgehalt in den Kompositen zu erzielen. Zudem soll der Anteil an potentiell gesundheitsschädlichen Restmonomeren in der Polymermatrix möglichst gering sein.

PMMA ist ein Thermoplast und gilt in der Zahnmedizin aufgrund seiner guten Mundbeständigkeit und der geringen Toxizität des Methylmethacrylat-Monomers (Methacrylsäuremethylester; MMA) bei gleichzeitig guten Polymerisationseigenschaften als bedeutendstes Polymer.^[11, 145] Darüber hinaus wird PMMA auch in vielen anderen medizinischen Anwendung verwendet, z.B.

als Knochenzement, was hauptsächlich auf seine gute Biokompatibilität zurückzuführen ist.^[146-147] Mit PMMA können ganze Zähne ersetzt bzw. auch einzelne Zahndefekte restauriert werden.^[11]

Tabelle 18: Zusammenstellung der Herausforderungen und der in dieser Arbeit durchgeführten Lösungsansätze für die Darstellung biomimetischer Dentalkomposite, basierend auf dem Vorbild Haifischzahn-Enameloid.

Eigenschaft	Biologisches Modell: <i>Haifischzahn- Enameloid</i>	Biomimetischer Ansatz: <i>Synthetische Komposite</i>
Mineralphase	Fluorapatit-Kristallite	Fluorapatit-Kristallite mit ähnlicher Morphologie und Form; Annäherung an die natürlichen Kristallite
Anordnung und Orientierung des Minerals	Parallel orientierte Fluorapatit-Kristallite in Bündeln (2. und 3. Hierarchiestufe)	1) Ultrazentrifugation, um eine parallele Anordnung der Kristallite zu erzielen 2) Paralleles Wachstum von Fluorapatit-Kristalliten auf Substraten
Organische Matrix	Kollagen und weitere Proteine (insgesamt < 5 Gew%)	PMMA-basierende Polymere in möglichst geringer Menge, bezogen auf das gesamte Komposit

Das Polymer in den synthetischen Kompositen soll idealerweise zwischen einzelnen Fluorapatit-Kristalliten liegen (Abbildung 41). Durch den Einsatz von verschiedenen Monomeren mit polaren Substituenten soll die Wechselwirkung von Fluorapatit mit der Polymermatrix erhöht werden. Die Polymermatrix soll somit die einzelnen Fluorapatit-Kristallite innerhalb des Komposits "zusammenkleben" und somit zu einem stabilen Komposit beitragen.

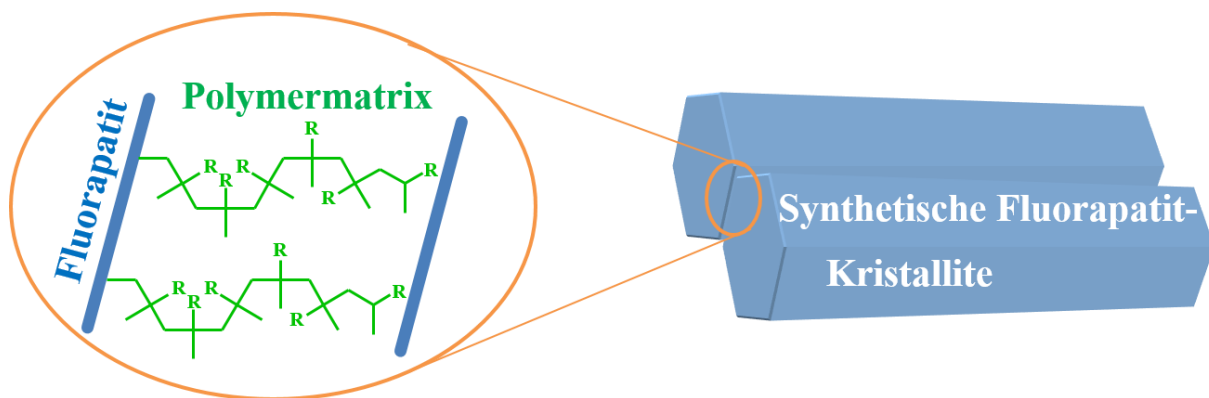


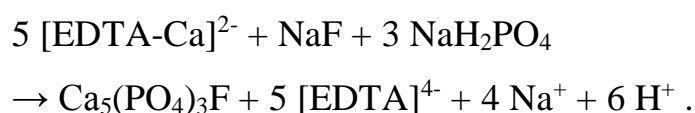
Abbildung 41: Schematische Darstellung der Fluorapatit/Polymer-Komposite. Die Polymere, insbesondere auch mit polaren Substituenten, können mit dem Fluorapatit wechselwirken, um die synthetischen Fluorapatit-Kristallite "zusammenzukleben".

5.4.2 Synthese und Charakterisierung von Fluorapatit- und Hydroxylapatit-Kristalliten in unterschiedlichen Morphologien

Für eine biomimetische Nachbildung des Haifischzahn-Enameloids wurden Fluorapatit-Kristallite mit einer ähnlichen Form, wie die des Enameloids dargestellt. Die Apatite Fluorapatit^[64-65] und Hydroxylapatit^[67] (als Referenzmaterial) wurden hydrothermal in Autoklaven dargestellt. Durch Zusatz von Additiven, d.h. anorganischen Salzen und organischen Verbindungen, wurde untersucht, in wie weit sich die Form der Kristallite variieren lässt. Ziel war es, dem biologischen Vorbild möglichst nahe zu kommen. Die synthetischen Fluorapatit-Kristallite wurden mittels Rasterelektronenmikroskopie,

Röntgenpulverdiffraktometrie, Elementaranalyse und IR-Spektroskopie charakterisiert.

In der hydrothermalen Synthese von Fluorapatit nach Chen *et al.* wird als Calciumionenquelle ein Calcium-EDTA-Komplex verwendet.^[64] Die entsprechende Reaktion zur Bildung des Fluorapatits kann unter hydrothermalen Reaktionsbedingungen ($T=120\text{ °C}$, $p=2\cdot 10^5\text{ Pa}$)^[64] wie folgt beschrieben werden:



Es zeigte sich, dass neben Additiven auch die eingesetzte Eduktkonzentration einen Einfluss auf die Form der Fluorapatit-Kristallite hat. Bei erhöhter Eduktkonzentration bilden sich 2-3 μm lange Fluorapatit-Stäbchen, die in der Mitte etwas dicker als am Rand sind. Die Stirnflächen sind abgerundet (Abbildung 42A). Verringert man die Eduktkonzentration, werden die Fluorapatit-Stäbchen länger (ca. 15-20 μm) und die Stirnflächen sind weniger rundlich (Abbildung 42B).

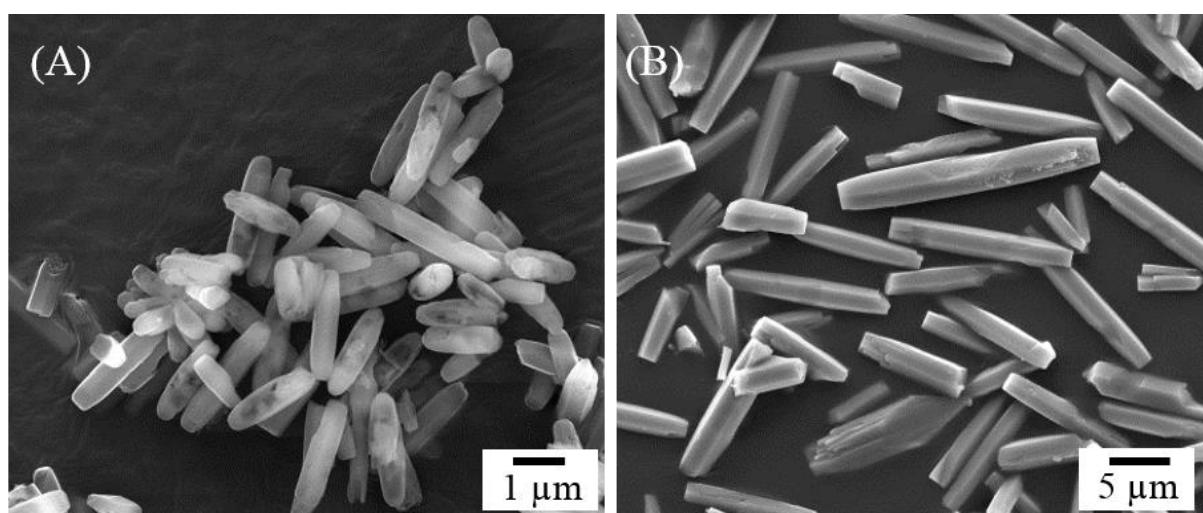


Abbildung 42: Rasterelektronenmikroskopische Aufnahmen von hydrothermal dargestellten Fluorapatit-Stäbchen. (A) Viermal höhere Eduktkonzentrationen und (B) Eduktkonzentrationen als von Chen *et al.* beschrieben.^[64]

Bei synthetischen Hydroxylapatit-Kristalliten wurde der Einfluss von Aminosäuren auf die resultierende Morphologie der Kristallite gezeigt.^[148] Deshalb wurden bei der Synthese von Fluorapatit auch die sauren Aminosäuren Asparaginsäure und Glutaminsäure zugesetzt, um deren Einfluss auf die resultierende Fluorapatit-Morphologie zu analysieren. Die Fluorapatit-Stäbchen haben hier eine gleichmäßige Dicke und sind einige Mikrometer lang. Zwischen Fluorapatit mit Asparaginsäure und Glutaminsäure als Additiven gibt es kaum Unterschiede (Abbildung 43).

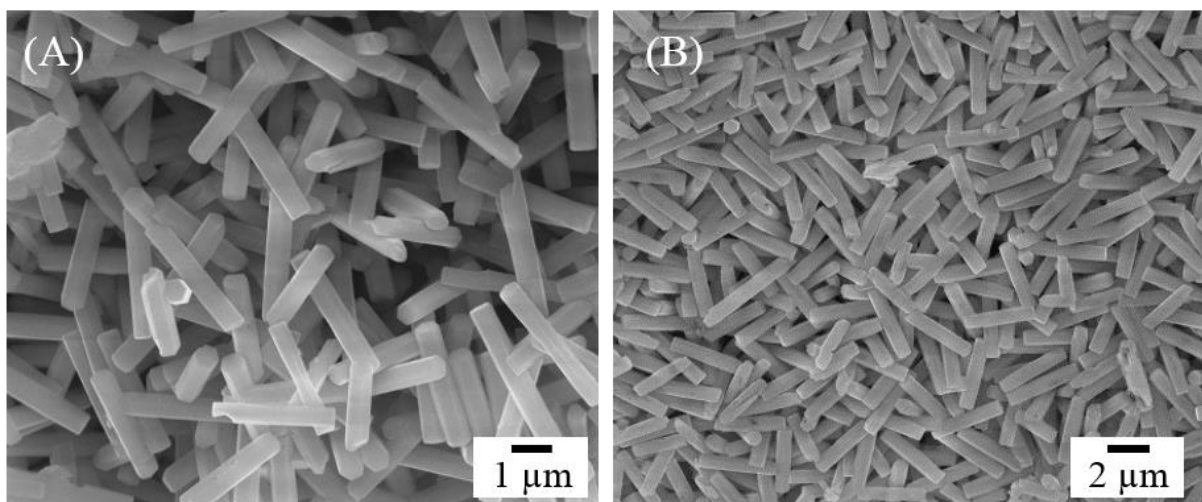


Abbildung 43: Rasterelektronenmikroskopische Aufnahmen von hydrothermal in Anwesenheit saurer Aminosäuren dargestellten Fluorapatit-Stäbchen. (A) Verwendung von Asparaginsäure und (B) Glutaminsäure als Additive.

Besonders bei der Verwendung von MgCl_2 sieht man deutlich die hexagonalen Stirnflächen der Fluorapatit-Kristallite (Abbildung 44A). Mit Citronensäure bilden sich Bündel-ähnliche Strukturen, die ähnlich der Kristallitbündel im Haifisch-Enameloid sind (Abbildung 44B). Wu *et al.* folgern, dass das Citrat einen signifikanten Einfluss auf die resultierende Fluorapatit-Kristallitmorphologie hat. Sie führen dies hauptsächlich darauf zurück, dass die drei Carboxylatgruppen des Citrats mit den Calciumionen an der Oberfläche des Fluorapatits wechselwirken können und so die Kristallisation beeinflussen

können. Dabei ist die Morphologie der Fluorapatit-Kristallite auch von der eingesetzten Menge an Citronensäure abhängig.^[65]

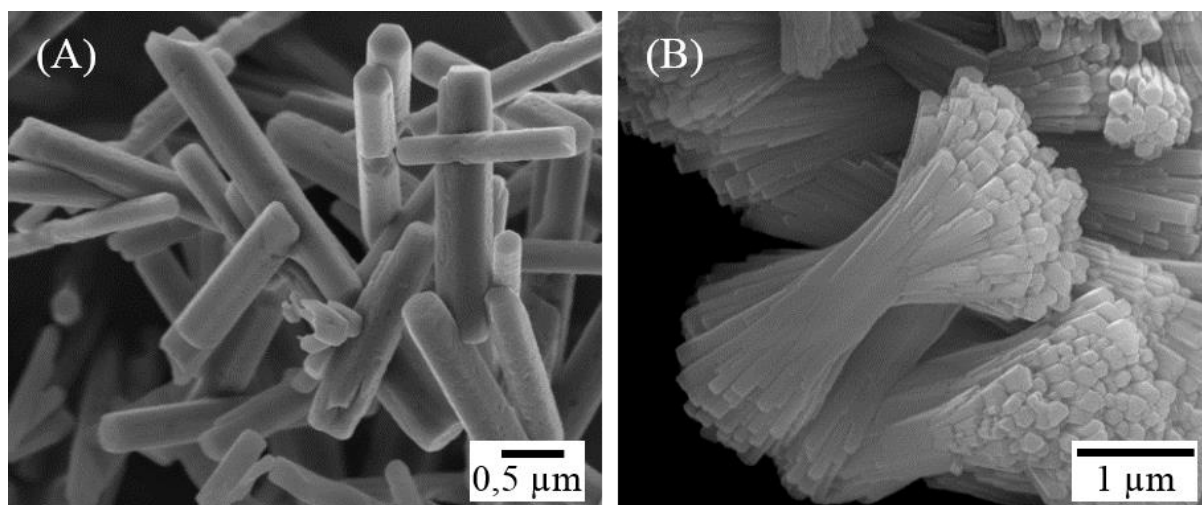


Abbildung 44: Rasterelektronenmikroskopische Aufnahmen von hydrothermal dargestellten (A) Fluorapatit-Stäbchen unter Verwendung von MgCl_2 als Additiv und (B) Fluorapatit-"Bündel" unter Verwendung von Citronensäure als Additiv.

Durch Zusatz von NaCl und ZnCl_2 als Additiven haben die Fluorapatit-Stäbchen auch einen einheitlichen Durchmesser und eine hexagonale Stirnfläche (Abbildung 45).

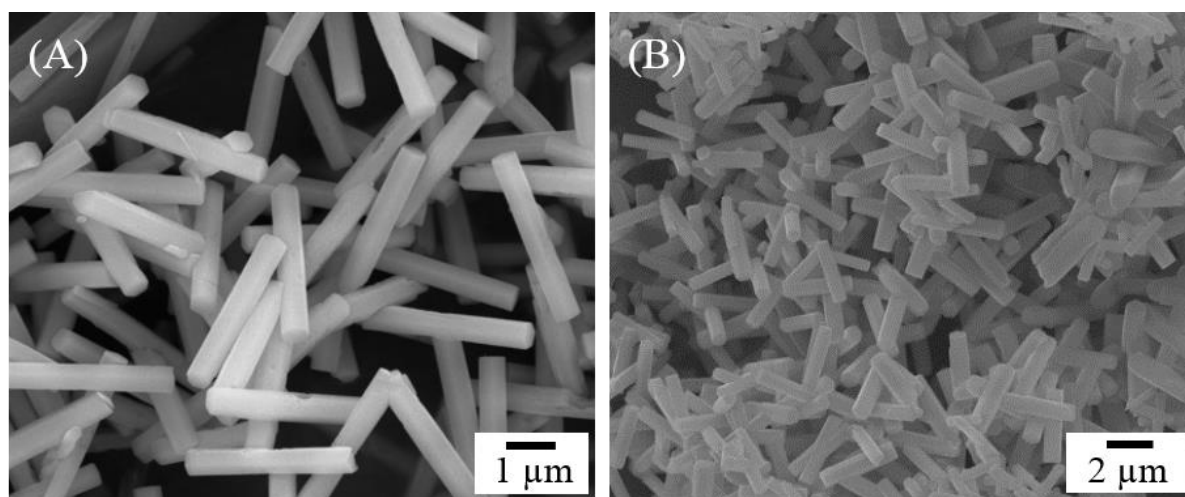


Abbildung 45: Rasterelektronenmikroskopische Aufnahmen von hydrothermal dargestellten Fluorapatit-Stäbchen. (A) Verwendung von NaCl und (B) ZnCl_2 als Additiven.

Im Enameloid des Haifischzahns liegen unterschiedliche Proteine vor.^[111-112] Um den Einfluss von Proteinen auf das Wachstum der Fluorapatit-Kristallite zu untersuchen, wurde Rinderalbumin (engl.: *bovine serum albumin*; BSA) als Modellprotein verwendet. Die hydrothermale Synthese von Fluorapatit wurde in Anwesenheit dieses Proteins durchgeführt. Unter den hydrothermalen Reaktionsbedingungen ($T=120\text{ °C}$, $p=2\cdot 10^5\text{ Pa}$)^[64] wurde das Protein allerdings denaturiert. Einen Einfluss des Proteins auf die resultierende Fluorapatit-Morphologie konnte nicht festgestellt werden.

Um auch Hydroxylapatit als Mineralphase für die synthetische Komposite verwenden zu können, wurde dieses ebenfalls hydrothermal dargestellt. Es bilden sich ca. $1\text{ }\mu\text{m}$ lange und sehr dünne (50-70 nm) Hydroxylapatit-Stäbchen (Abbildung 46).

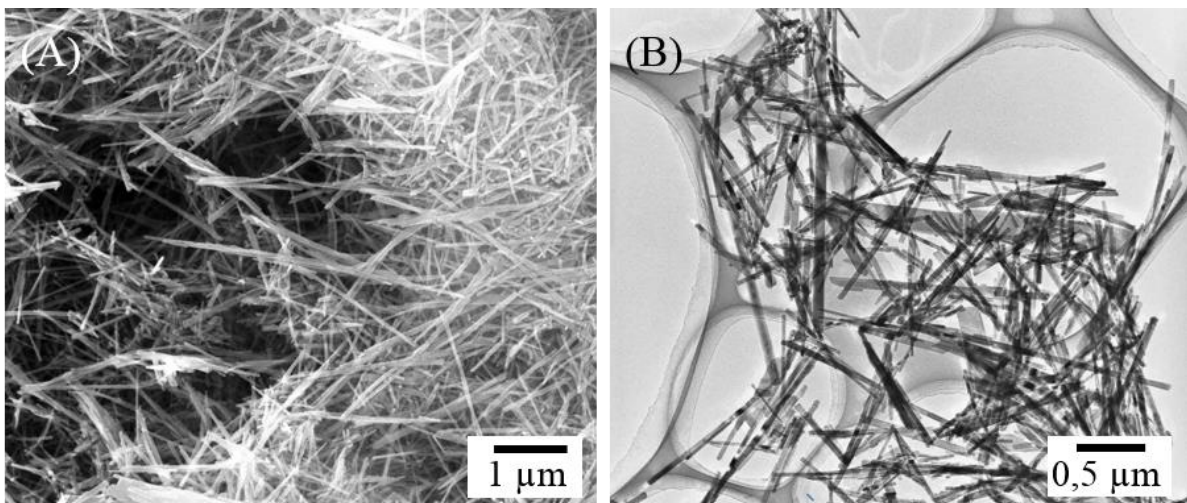


Abbildung 46: (A) Rasterelektronenmikroskopische Aufnahme und (B) transmissionselektronenmikroskopische Aufnahme von hydrothermal dargestellten Hydroxylapatit-Stäbchen. Diese Hydroxylapatit-Stäbchen sind deutlich dünner als die in dieser Arbeit vorgestellten Fluorapatit-Stäbchen.

Die Analyse der synthetischen Fluorapatit-Kristallite mittels Röntgenpulverdiffraktometrie zeigt, dass in allen Proben ein phasenreiner Fluorapatit erhalten wurde, wobei alle Reflexe dem Fluorapatit zugeordnet

5. Ergebnisse und Diskussion

werden können. Die Reflexe sind sehr schmal, was auf einen kristallinen Fluorapatit schließen lässt (Abbildung 47).

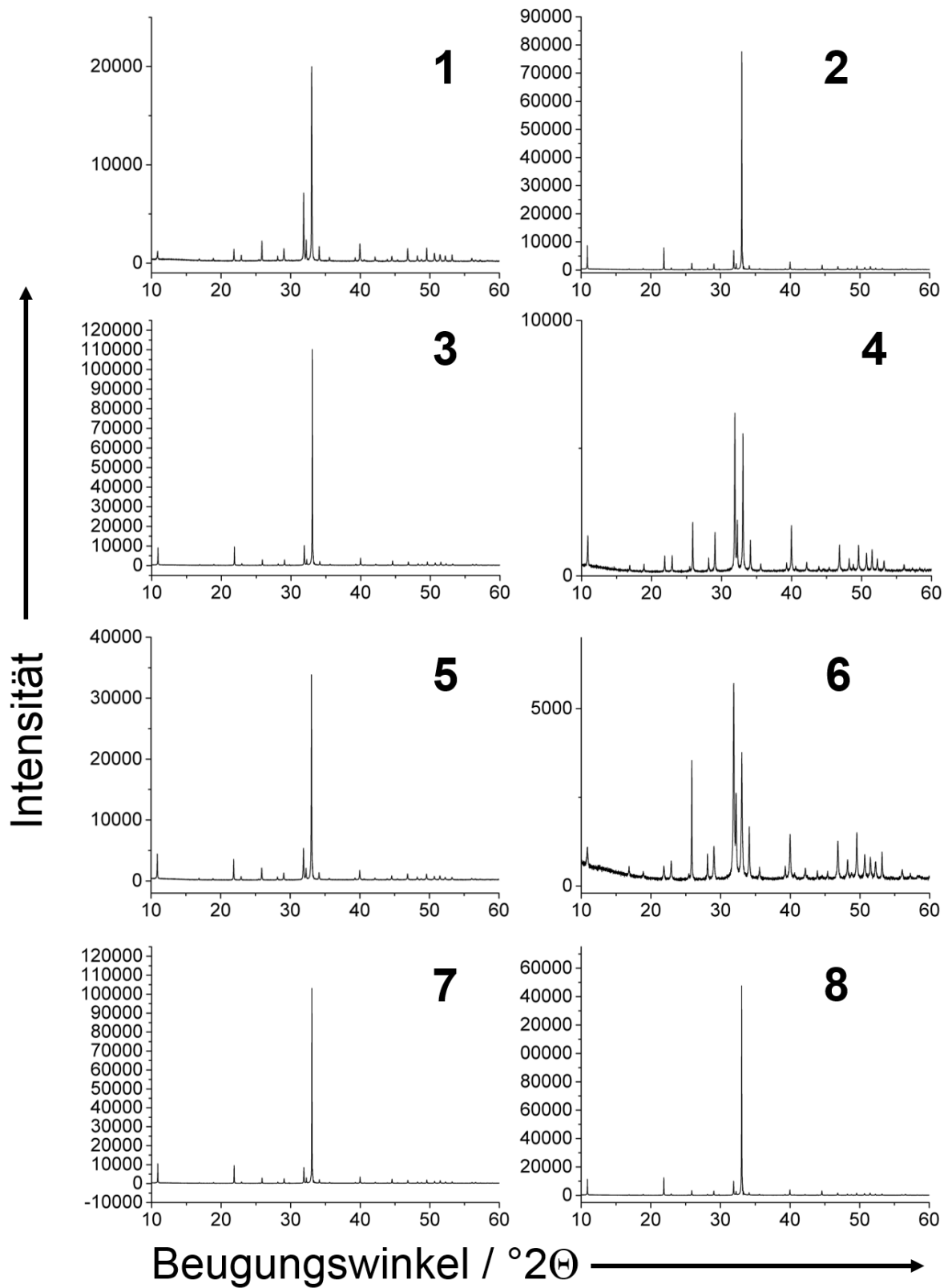


Abbildung 47: Röntgenpulverdiffraktogramme der dargestellten Fluorapatit-Morphologien zeigen ausschließlich Reflexe, die dem Fluorapatit zugeordnet werden können (**1** Fluorapatit-Stäbchen_{2 μm}; **2** Fluorapatit-Stäbchen_{20 μm}; **3** Fluorapatit-Stäbchen mit Asparaginsäure; **4** Fluorapatit-Stäbchen mit Glutaminsäure; **5** Fluorapatit-Stäbchen mit MgCl₂; **6** Fluorapatit-Bündel mit Citronensäure; **7** Fluorapatit-Stäbchen mit NaCl; **8** Fluorapatit-Stäbchen mit ZnCl₂).

Fluorapatit hat eine hexagonale Kristallstruktur mit den Gitterparametern a und c .^[116] Die Gitterparameter der hier vorgestellten Proben zeigen, dass es sich um Fluorapatit handelt, wobei zwischen den Proben leicht unterschiedliche Gitterparameter gefunden wurden (Tabelle 19), was auf den unterschiedlichen Einbau von Fremdionen in das Apatit-Gitter zurückzuführen ist. Der Einbau von Fremdionen in das Apatit-Gitter kann einen Einfluss auf die Gitterparameter und die Kristallinität der Apatite haben. Wie sich die Gitterparameter durch den Einbau von Fremdionen verändern, hängt besonders von den Ionenradien der Fremdionen ab.^[119]

Tabelle 19: Gitterparameter der dargestellten Fluorapatit-Morphologien (**1** Fluorapatit-Stäbchen_{2 μm}; **2** Fluorapatit-Stäbchen_{20 μm}; **3** Fluorapatit-Stäbchen mit Asparaginsäure; **4** Fluorapatit-Stäbchen mit Glutaminsäure; **5** Fluorapatit-Stäbchen mit MgCl₂; **6** Fluorapatit-Bündel mit Citronensäure; **7** Fluorapatit-Stäbchen mit NaCl; **8** Fluorapatit-Stäbchen mit ZnCl₂).

Probe	$a / \text{\AA}$	$c / \text{\AA}$	$V / \text{\AA}^3$
1	9,39003(8)	6,88362(7)	525,63(1)
2	9,38784(8)	6,88341(9)	525,37(1)
3	9,3877(1)	6,8826(1)	525,30(1)
4	9,3843(1)	6,8824(1)	524,89(2)
5	9,3876(1)	6,8792(1)	525,02(1)
6	9,3835(2)	6,8848(2)	524,99(2)
7	9,38995(8)	6,88298(9)	525,57(1)
8	9,38889(8)	6,8843(1)	525,6(1)

Bei der hier durchgeführten Synthese von Hydroxylapatit bilden sich auch Anteile an Monetit, CaHPO₄, was mittels Röntgenpulverdiffraktometrie nachgewiesen wurde. Wie beim Fluorapatit sind die Beugungsreflexe auch beim Hydroxylapatit sehr schmal, was auf Kristallite, deren Größe im Bereich von Mikrometern liegt, schließen lässt (Abbildung 48).

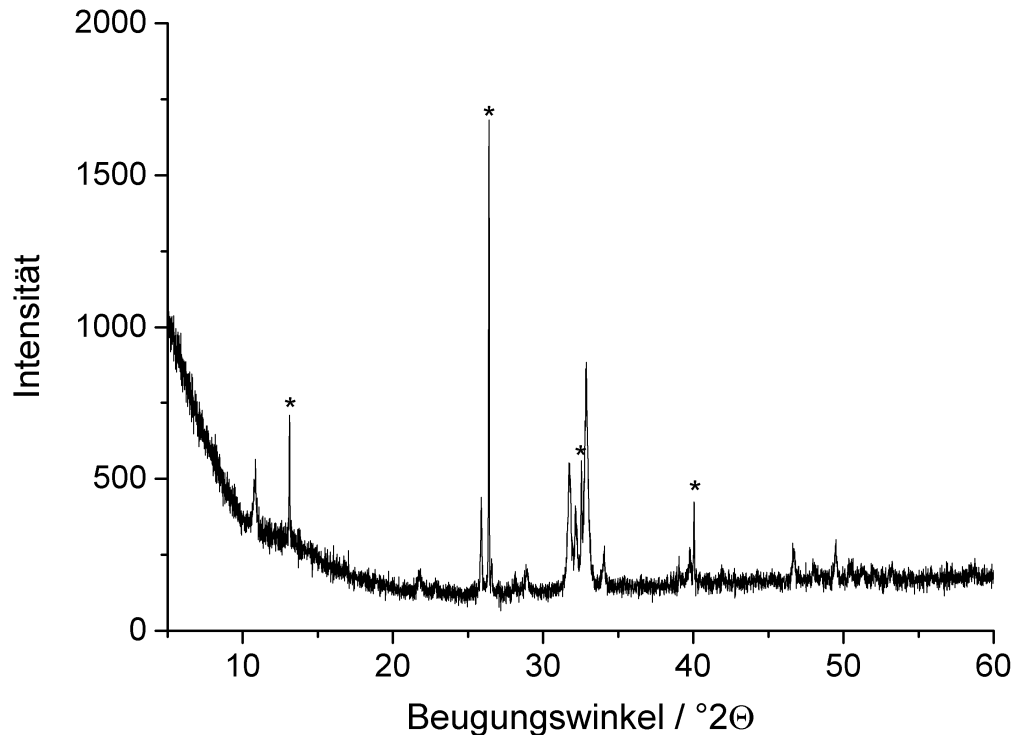


Abbildung 48: Röntgenpulverdiffraktogramm von hydrothermal dargestelltem Hydroxylapatit. Neben der Hydroxylapatit-Phase gibt es auch Reflexe für Monetit, CaHPO_4 . Die Reflexe für Monetit im Röntgenpulverdiffraktogramm sind mit einem Sternchen (*) gekennzeichnet. Die übrigen Reflexe können dem Hydroxylapatit zugeordnet werden.

Die Gitterparamter des synthetischen Hydroxylapatits sind vergleichbar mit denen eines geologischen Hydroxylapatits (Tabelle 20). Durch den Einbau der Hydroxidionen in das Apatit-Gitter (Hydroxylapatit) hat die a -Achse eine Länge von ca. 9,43 Å. Werden die kleineren Fluoridionen eingebaut (Fluorapatit), so sinkt der Wert der a -Achse auf ca. 9,37 Å. Der Wert der c -Achse bleibt konstant (ca. 6,88 Å). Diese Beobachtung wird durch Arbeiten von LeGeros bestätigt.^[114]

Tabelle 20: Gitterparameter von hydrothermal dargestelltem Hydroxylapatit (die Gitterparameter von Monetit, CaHPO_4 , sind hier nicht angegeben) im Vergleich zu einem geologischen Hydroxylapatit^[117] und einem geologischen Fluorapatit.

Probe	$a / \text{\AA}$	$c / \text{\AA}$	$V / \text{\AA}^3$
Synthetischer Hydroxylapatit	9,4344(3)	6,8823(5)	530,51(5)
Geologischer Hydroxylapatit ^[117]	9,4249(4)	6,8838(4)	529,56
Geologischer Fluorapatit	9,37500(3)	6,88847(3)	524,319(4)

Die Analyse der chemischen Zusammensetzung der synthetischen Fluorapatit-Kristallite zeigt, dass es sich um Fluorapatit handelt, wobei das molare Ca/P-Verhältnis bei etwa 1,7 liegt, was auf einen stöchiometrischen Fluorapatit (Ca/P-Verhältnis: 1,67) hinweist (Tabelle 21). Werte zwischen 1,5 und 1,67 weisen auf einen Calcium-defizitären Fluorapatit hin.^[1] Der Fluoridanteil der synthetischen Fluorapatite ist vergleichbar mit einem stöchiometrischen Fluorapatit (3,77 Gew%). Auffällig ist, dass auch Natriumionen in das Apatit-Gitter eingelagert wurden. Diese Einlagerung ist auf die verwendeten Natrium-haltigen Edukte (EDTA-Ca-Na₂, NaH₂PO₄·H₂O, Na₃PO₄·12 H₂O und NaF) zurückzuführen. Natriumionen können für Calciumionen in das Apatit-Gitter eingebaut werden.^[119] Bei dem Einsatz von MgCl₂ als Additiv (**5**) werden Magnesiumionen in das Apatit-Gitter eingebaut, Chloridionen sind hingegen nicht nachweisbar. Auch Zinkionen werden nicht in das Apatit-Gitter eingebaut. Dennoch haben diese Ionen einen Einfluss auf die resultierende Fluorapatit-Morphologie.

Tabelle 21: Chemische Zusammensetzung der dargestellten Fluorapatit- und Hydroxylapatit-Morphologien (**1** Fluorapatit-Stäbchen_{2 μm}; **2** Fluorapatit-Stäbchen_{20 μm}; **3** Fluorapatit-Stäbchen mit Asparaginsäure; **4** Fluorapatit-Stäbchen mit Glutaminsäure; **5** Fluorapatit-Stäbchen mit MgCl₂; **6** Fluorapatit-Bündel mit Citronensäure; **7** Fluorapatit-Stäbchen mit NaCl; **8** Fluorapatit-Stäbchen mit ZnCl₂; **9** Hydroxylapatit-Stäbchen).

Element	1	2	3	4	5	6	7	8	9
C	0,52	0,67	0,69	0,90	0,64	1,50	1,52	0,72	0,10
H	0,34	0,34	0,31	0,31	0,32	0,34	0,33	0,35	0,41
N	0,14	0,16	0,23	0,27	0,17	--	0,16	0,19	--
Na ⁺	2,47	0,69	1,71	1,46	1,68	2,90	1,52	1,65	--
Ca ²⁺	35,23	37,0	38,2	37,35	37,7	37,3	37,4	39,4	38,8
PO ₄ ³⁻	55,3	53,8	53,5	51,8	53,6	52,9	53,3	52,9	56,4
Ca/P molar	1,51	1,63	1,69	1,71	1,67	1,67	1,66	1,76	1,63
F ⁻	3,67	3,88	3,60	3,89	3,71	3,37	3,79	3,77	--
Mg ²⁺	--	--	--	--	0,21	--	--	--	--
Cl ⁻	--	--	--	--	--	--	--	--	--
Zn ²⁺	--	---	--	--	--	--	--	--	--

Die IR-Spektren der Fluorapatit-Proben bestätigen die Apatit-Struktur (Abbildung 49). Darüber hinaus gibt es in den IR-Spektren bei ca. 1700 cm⁻¹ schwache Carbonylbanden, die auf die Anwesenheit von organischen Eduktresten schließen lassen, die auch durch dreimaliges Waschen nicht entfernt werden konnten. Diese Rückstände sind auch mittels Elementaranalyse nachweisbar.

Rückstände von organischen Molekülen wurden auch bei einer anderen Synthese von Hydroxylapatit durch Zhang *et al.* gefunden, die diese Rückstände auf chelatisierende organische Edukte zurückführen, die bei der Synthese verwendet wurden.^[66]

Dies würde auch die organischen Rückstände in den hier vorgestellten Fluorapatit-Proben erklären, da hier ein EDTA-Ca-Na₂-Komplex als Calciumionenquelle verwendet wurde. Überdies können auch die zugesetzten Additive Asparaginsäure, Glutaminsäure (jeweils zwei Carboxylgruppen) und Citronensäure (drei Carboxylgruppen) für die organischen Rückstände verantwortlich sein, da sie mit den Calciumionen des Apatits wechselwirken können.

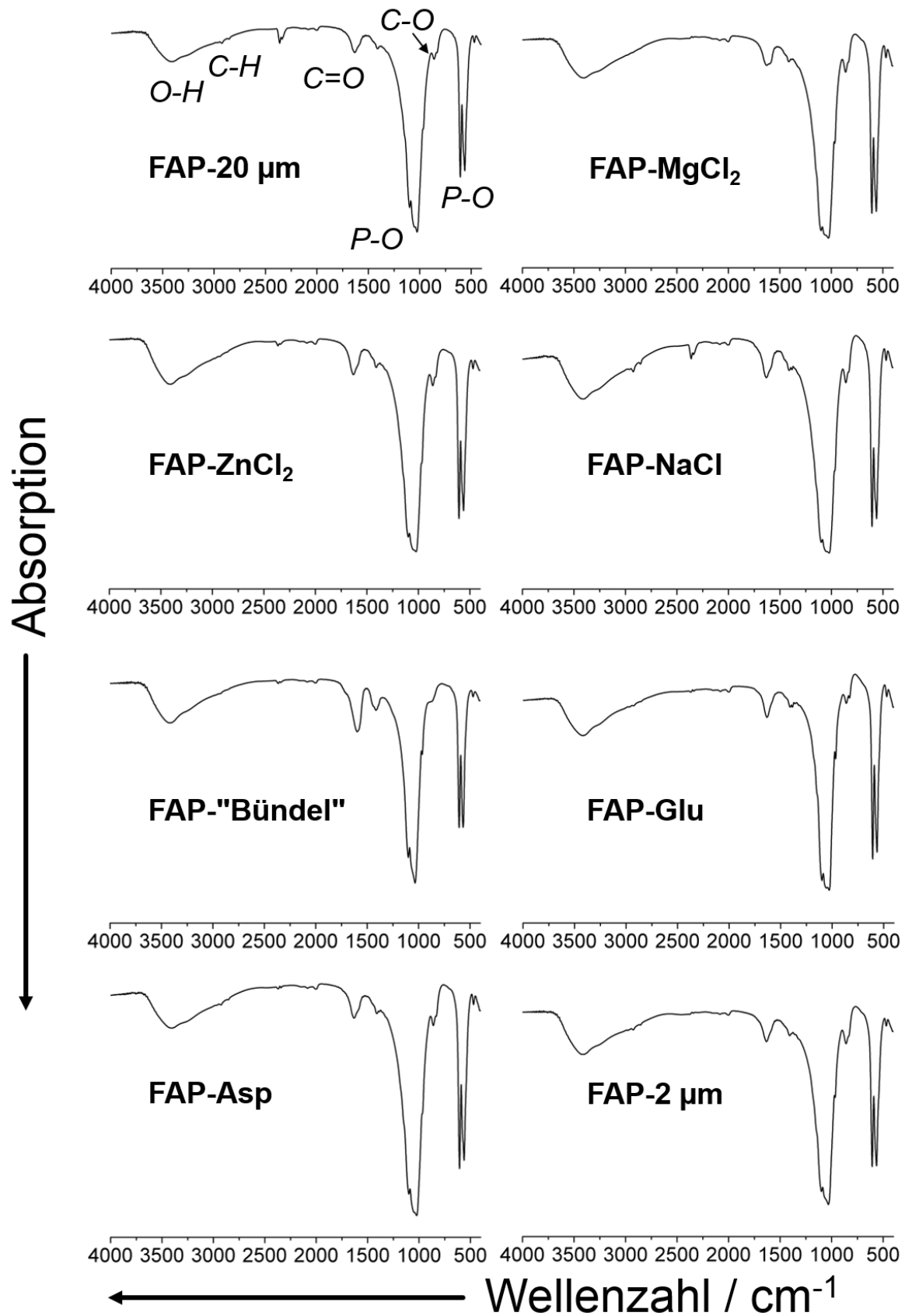


Abbildung 49: IR-Spektren der in dieser Arbeit präsentierten Fluorapatit-Proben. Die für Apatite charakteristischen Banden sind gekennzeichnet.

Die Ausbeute an Fluorapatit, welcher hydrothermal dargestellt wurde, wurde am Beispiel von Fluorapatit **2** bestimmt. Die maximale Ausbeute an Fluorapatit beträgt in diesem Versuch 252 mg, ausgehend von NaF als limitierendem Edukt. Die Ausbeute ist unabhängig von der Reaktionszeit (24, 48 und 72 h) und liegt bei ca. 30 % (Tabelle 22). Somit kann durch eine längere Reaktionszeit die Ausbeute an Fluorapatit nicht gesteigert werden.

Tabelle 22: Ausbeute an Fluorapatit **2** in Abhängigkeit von der Reaktionszeit (24, 48 und 72 h). Die Ausbeute liegt unabhängig von der Reaktionszeit bei ca. 30 %.

Reaktionszeit / h	Ausbeute / mg	Ausbeute / %
24	80,0	31,7
48	78,0	30,9
72	78,9	31,3

Ausbeuteverluste können auf den eingesetzten EDTA-Ca-Na₂-Komplex zurückgeführt werden. Ethylendiamintetraacetat (EDTA⁴⁻) ist ein sechszähniger Komplexligand und bildet stabile Chelat-Komplexe mit Calciumionen.^[57] Calciumionen werden während der Hydrothermalsynthese zum Fluorapatit aus dem EDTA-Komplex herausgelöst.^[64] Wahrscheinlich bleibt aber auch ein Anteil an Calciumionen komplexiert und steht deshalb für eine Kristallisation zum Fluorapatit nicht zur Verfügung.

Der Komplex EDTA-Ca-Na₂ wird häufig als Calciumionenquelle für die hydrothermale Darstellung von Fluorapatit verwendet,^[64-65] wobei die zeitverzögerte Freisetzung offenbar die Kristallisation begünstigt.

Als alternative Calciumionenquelle wurde in dieser Arbeit Calciumnitrat, Ca(NO₃)₂, verwendet, in dem die Calciumionen direkt verfügbar sind. Hier konnte aber keine definierte Fluorapatit-Kristallitmorphologie wie bei der Verwendung des EDTA-Ca-Na₂-Komplexes erhalten werden.

Prinzipiell können größere Autoklaven verwendet werden, wenn größere Produktmengen benötigt werden.

Die Morphologien von Fluorapatit nach Reaktionszeiten bis zu 10 h wurden von Chen *et al.*^[64] mittels Rasterelektronenmikroskopie und Transmissionselektronenmikroskopie untersucht. Dabei entstehen zuerst amorphe Partikel, die nach 5 min Reaktionszeit in kugelförmige und stäbchenförmige Partikel übergehen. Die stäbchenförmigen Partikel bestehen aus einzelnen, parallel zueinander orientierten, Kristalliten. Nach längerer Reaktionszeit (10 h) werden wohldefinierte Fluorapatit-Kristallite mit einer hexagonalen Struktur erhalten.^[64] Mit zunehmender Reaktionszeit (24, 48 und 72 h) bleibt die chemische Zusammensetzung der Fluorapatit-Kristallite konstant (Tabelle 23).

Tabelle 23: Chemische Zusammensetzung der dargestellten Fluorapatit-Probe **2** nach 24, 48 und 72 h Reaktionszeit (in Gew%). Die chemische Zusammensetzung des Fluorapatits nach unterschiedlichen Reaktionszeiten ist vergleichbar.

Element	Reaktionszeit		
	24 h	48 h	72 h
C	0,78	0,80	0,80
H	0,36	0,36	0,38
N	--	--	--
Na ⁺	1,44	1,41	1,46
Ca ²⁺	37,7	37,3	37,7
PO ₄ ³⁻	52,4	53,0	52,7
Ca/P molar	1,71	1,67	1,70
F ⁻	3,30	3,29	3,17

Die Röntgenpulverdiffraktogramme bestätigen, dass es sich bei allen Proben um einen phasenreinen Fluorapatit handelt (Abbildung 50).

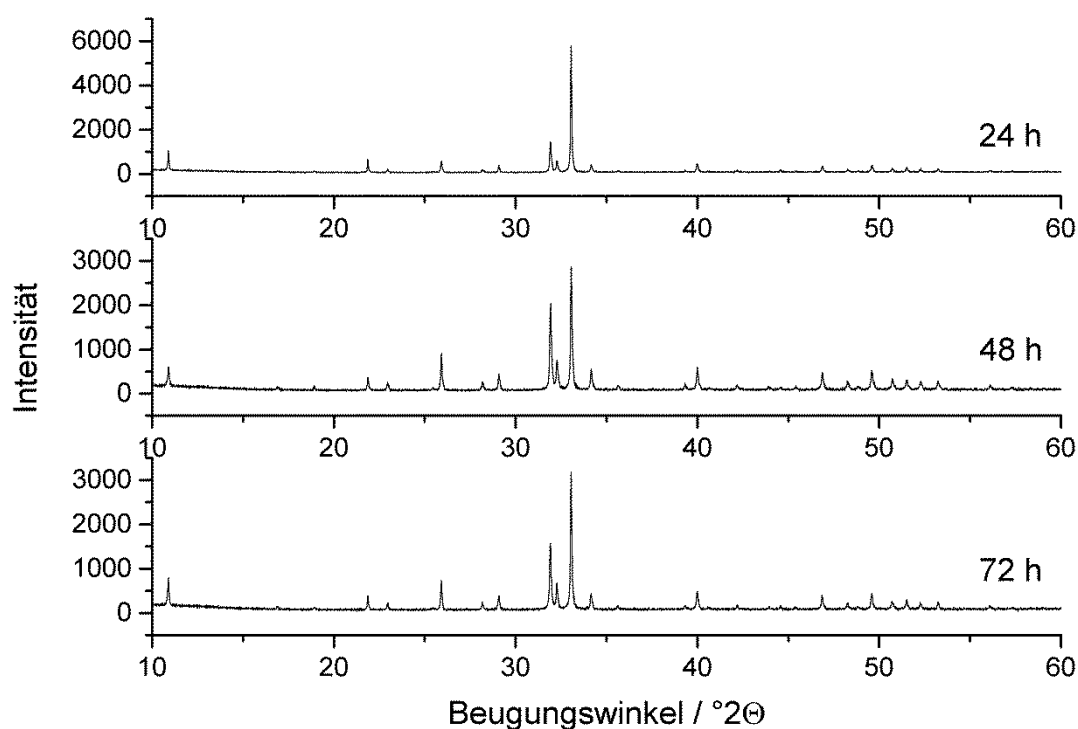


Abbildung 50: Röntgenpulverdiffraktogramme der dargestellten Fluorapatit-Probe 2 nach 24, 48 und 72 h Reaktionszeit. Die Röntgenpulverdiffraktogramme von Fluorapatit nach unterschiedlichen Reaktionszeiten sind sehr ähnlich und bestätigen, dass es sich um Fluorapatit handelt.

Durch die zunehmende Reaktionszeit bilden sich neben dem Fluorapatit also keine weiteren mineralischen Phasen. Die Gitterparameter bleiben zwischen den Proben mit unterschiedlichen Reaktionszeiten vergleichbar (Tabelle 24).

Tabelle 24: Gitterparameter der Fluorapatit-Probe **2** nach 24, 48 und 72 h Reaktionszeit.

Reaktionszeit / h	<i>a</i> -Achse / Å	<i>c</i> -Achse / Å	<i>V</i> / Å ³
24	9,3877(2)	6,8766(2)	524,84(3)
48	9,3856(2)	6,8791(2)	524,79(3)
72	9,3869(2)	6,8786(2)	524,90(3)

Auch die Form und die Größe der Fluorapatit-Kristallite bleiben konstant. Durch zunehmende Reaktionszeit lässt sich die Länge der Fluorapatit-Kristallite also nicht signifikant erhöhen (siehe Beispiele für 24 und 72 h Reaktionszeit in Abbildung 51).

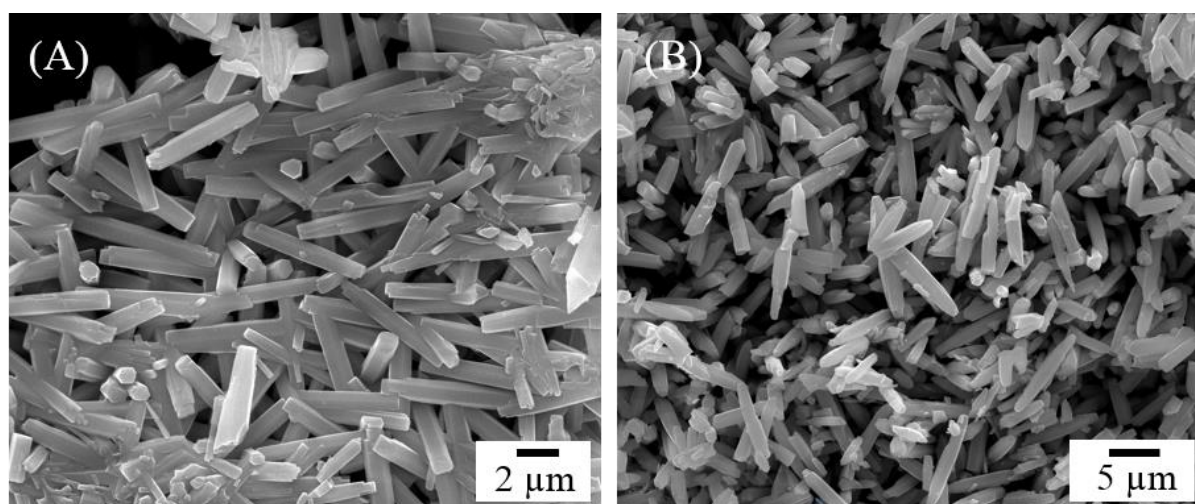


Abbildung 51: Rasterelektronenmikroskopische Aufnahmen der Fluorapatit-Probe **2** nach (A) 24 h und (B) 72 h Reaktionszeit. Die Form und die Größe der Fluorapatit-Stäbchen bleiben konstant.

Zusammenfassend können für die Darstellung der Mineral/Polymer-Dentalkomposite somit synthetische Fluorapatit-Kristallite (Stäbchen oder Bündel) oder Hydroxylapatit-Kristallite (Stäbchen) verwendet werden.

5.4.3 Übersicht über die verwendeten Monomere

Für die Polymerphase in den synthetischen Kompositen wurden vom Polymethylmethacrylat (PMMA) abgeleitete Polymere verwendet.

Neben dem Monomer Methylmethacrylat (MMA), wurden weitere unterschiedlich substituierte Methacrylat-Monomere verwendet.^[149] Als Methacrylate bezeichnet man im Allgemeinen Salze und Ester der Methacrylsäure.^[150]

Als Basis-Monomer wurde für alle Komposite MMA (Abbildung 53A) verwendet, das in einer radikalischen Polymerisation zum glasklaren Homopolymer PMMA polymerisiert werden kann.^[151]

Die radikalische Polymerisation lässt sich in einzelnen Reaktionsschritten beschreiben (Tabelle 25).^[150]

Tabelle 25: Übersicht über die einzelnen prinzipiellen Reaktionsschritte der radikalischen Polymerisation (nach Jakubke^[150]). Um die Polymerisation zu starten, ist ein Radikalstarter notwendig. Hierzu können z.B. organische Peroxide oder Azo-Verbindungen verwendet werden.^[152]

Reaktionsschritt	Schema
Startreaktion	$R \rightarrow R\bullet$
Wachstum	$R\bullet + M \rightarrow RM\bullet$ $RM\bullet + M \rightarrow RMM\bullet$ usw.
Übertragung	$RMM\bullet + R \rightarrow RMM + R\bullet$
Abbruchreaktion	Rekombination zweier Radikale

Vom MMA wurden in den meisten Kompositen 90 Gew% oder mehr verwendet. Zur Optimierung der organischen Phase (mechanisch, Wechselwirkung zum Apatit) wurden neben dem MMA auch noch weitere Monomere verwendet, d.h. es wurden Copolymere (Mischpolymere) dargestellt (Abbildung 52).

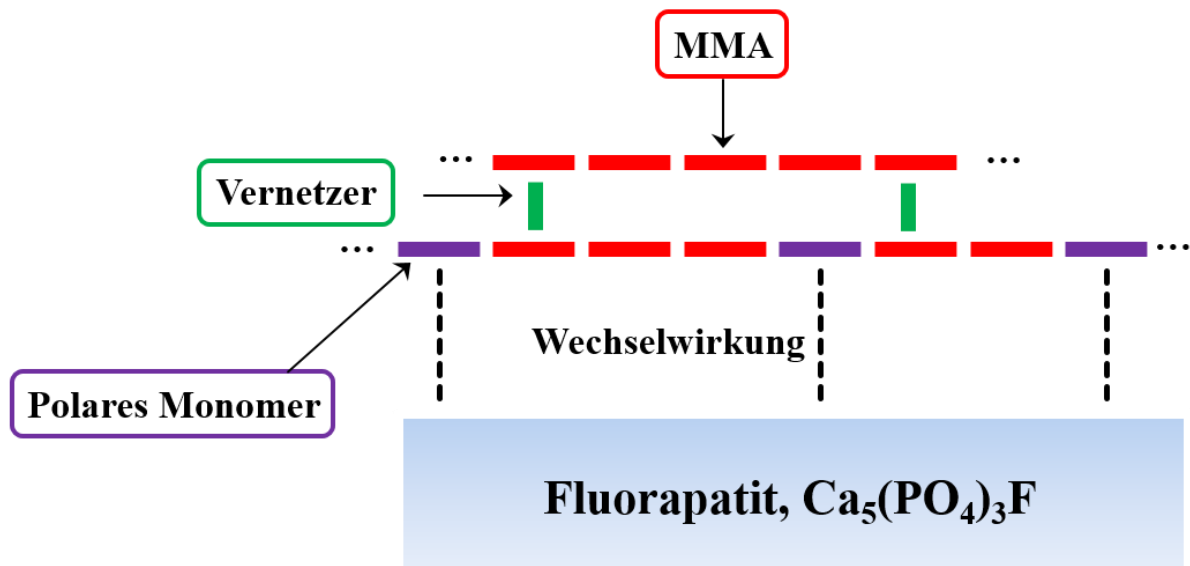


Abbildung 52: Schematische Darstellung der Polymerphase mit MMA (rot) als Hauptmonomer (>90 Gew% im Copolymer). Als Vernetzer (grün) wurde z.B. EGDMA verwendet. Als Haftvermittler (lila) zwischen Polymer und Fluorapatit wurden Monomere mit polaren Substituenten wie z.B. Methacrylsäure (Carboxylgruppen) und der Hydroxyester 2-Hydroxyethylmethacrylat (Hydroxylgruppen) verwendet. Eine Übersicht über alle verwendeten Monomere ist in Abbildung 53 dargestellt.

Bei der radikalischen Polymerisation entstehen ataktische, d.h. strukturell ungeordnete Polymere.^[150-151] Als Vernetzer wurden Monomere mit zwei (Diurethandimethacrylat, HEMATMDI, Abbildung 53B; Ethylenglykoldimethacrylat, EGDMA, Abbildung 53C) bzw. drei (Trimethylolpropantrimethacrylat, TMPTMA, Abbildung 53E) polymerisierbaren Gruppen verwendet. Dadurch können einzelne Ketten miteinander vernetzt werden und die Dichte des Polymernetzwerks kann erhöht werden. Zudem wird durch einen Vernetzerzusatz die Kettenbeweglichkeit herabgesetzt.^[151] Die theoretische Vernetzung durch das TMPTMA (drei polymerisierbare Gruppen) ist höher als die durch HEMATMDI und EGDMA (jeweils zwei polymerisierbare Gruppen). Durch den Zusatz von Vernetzermolekülen lassen sich die mechanischen Eigenschaften der

Polymerphase verbessern.^[11] Die polaren Urethan-Gruppen (NH-CO-O) des HEMATMDIs können zusätzlich mit dem Apatit wechselwirken. Durch die C₉H₁₈-Einheit ist das HEMTMDI flexibler als beispielsweise das EGDMA (C₂H₄-Einheit). Von den Vernetzer-Monomeren wurden jeweils einige Gew% verwendet.

Die Anbindung des Apatits an die Polymermatrix ist sehr wichtig, um gute mechanische Eigenschaften für das gesamte Komposit zu erzielen. Inwieweit die Polymermatrix mit dem Apatit reagiert bzw. wechselwirkt, hängt vor allem von den funktionellen Gruppen des Polymers ab.

Zur Steigerung der Wechselwirkung des Apatits (stark polar) mit der PMMA-Matrix (wenig polar) wurden haftvermittelnde Monomere mit polaren Substituenten (Methacrylsäure, GMAA, Abbildung 53F; der Hydroxyester 2-Hydroxyethylmethacrylat, HEMA, Abbildung 53G; N-(2-Methacryloyloxyethyl)ethylen-Harnstoff, MEEU 25 M, Abbildung 53H und HEMA-Phosphat, Abbildung 53I) verwendet. Diese Monomere mit polaren funktionellen Gruppen, z.B. Carboxyl- oder Hydroxylgruppen, sind polarer als reines MMA und wurden deshalb in geringen Mengen (ca. 1-10 Gew%) als Comonomer zusätzlich zum MMA verwendet, um eine Anbindung des Apatits an die Polymermatrix zu ermöglichen. Die polaren Gruppen dieser Monomere können mit dem Apatit wechselwirken, und die Methacrylatfunktion reagiert mit der Polymerphase. Zudem wurde 3-Methacryloxypropyltrimethoxysilan (MEMO, Abbildung 53J) verwendet, wobei die Methoxygruppen dieses Monomers zu reaktiven Silanol-Gruppen (Si-OH) hydrolysieren können,^[153] die dann mit dem Apatit wechselwirken können.

Je nach Polarität des Monomers benötigt man wenig (z.B. ca. 1 Gew% beim HEMA-Phosphat) oder mehr (z.B. 10 Gew% beim HEMA) von dem polaren Monomer für eine Comonomermischung. Erhöht man den Anteil des polaren Monomers, kann man die Wechselwirkung des Polymers mit dem Apatit auch steigern. Durch die eingebrachten funktionellen Gruppen (z.B. Hydroxylgruppen

beim HEMA und Carboxylgruppen beim GMAA) können sich auch Wasserstoffbrückenbindungen ausbilden, die die Polymerphase zusätzlich stabilisieren können.

Zur Verbesserung der mechanischen Eigenschaften der Polymerphase wurde auch die von Bisphenol A abgeleitete "Bowen-Verbindung" (Abbildung 53D) verwendet,^[11] die auch als Vernetzer wirken kann, sowie Isobornylmethacrylat (IBOMA; Abbildung 53K), das durch seinen sperrigen Isobornylrest die Steifigkeit der Polymerkette erhöhen kann.^[151]

Prinzipiell eignen sich neben den hier vorgestellten Monomeren auch noch weitere Monomere mit C=C-Doppelbindung, wie z.B. Styrol, als Comonomere für die radikalische Polymerisation.^[151]

Bei der Polymerisation von MMA kann eine Schrumpfung von bis zu ca. 20 Vol% auftreten,^[11] was auf den Dichteunterschied von MMA ($0,94 \text{ g cm}^{-3}$; Ref.^[79]) zum PMMA ($1,19 \text{ g cm}^{-3}$; Ref.^[154]) zurückzuführen ist. Zudem ist die Polymerisation exotherm ($-56,6 \text{ kJ mol}^{-1}$).^[11] Um diese Nachteile zu minimieren, wurde deshalb bei einigen Proben bereits auspolymerisiertes PMMA zu der Comonomermischung zugesetzt. Bei großen Polymerisationsansätzen spielt die Wärmeabfuhr eine wichtige Rolle.^[150] In den hier vorgestellten Kompositen ist dies aber von untergeordneter Bedeutung, da sehr kleine Ansätze (ca. 1 mL Comonomermischung) verwendet wurden.

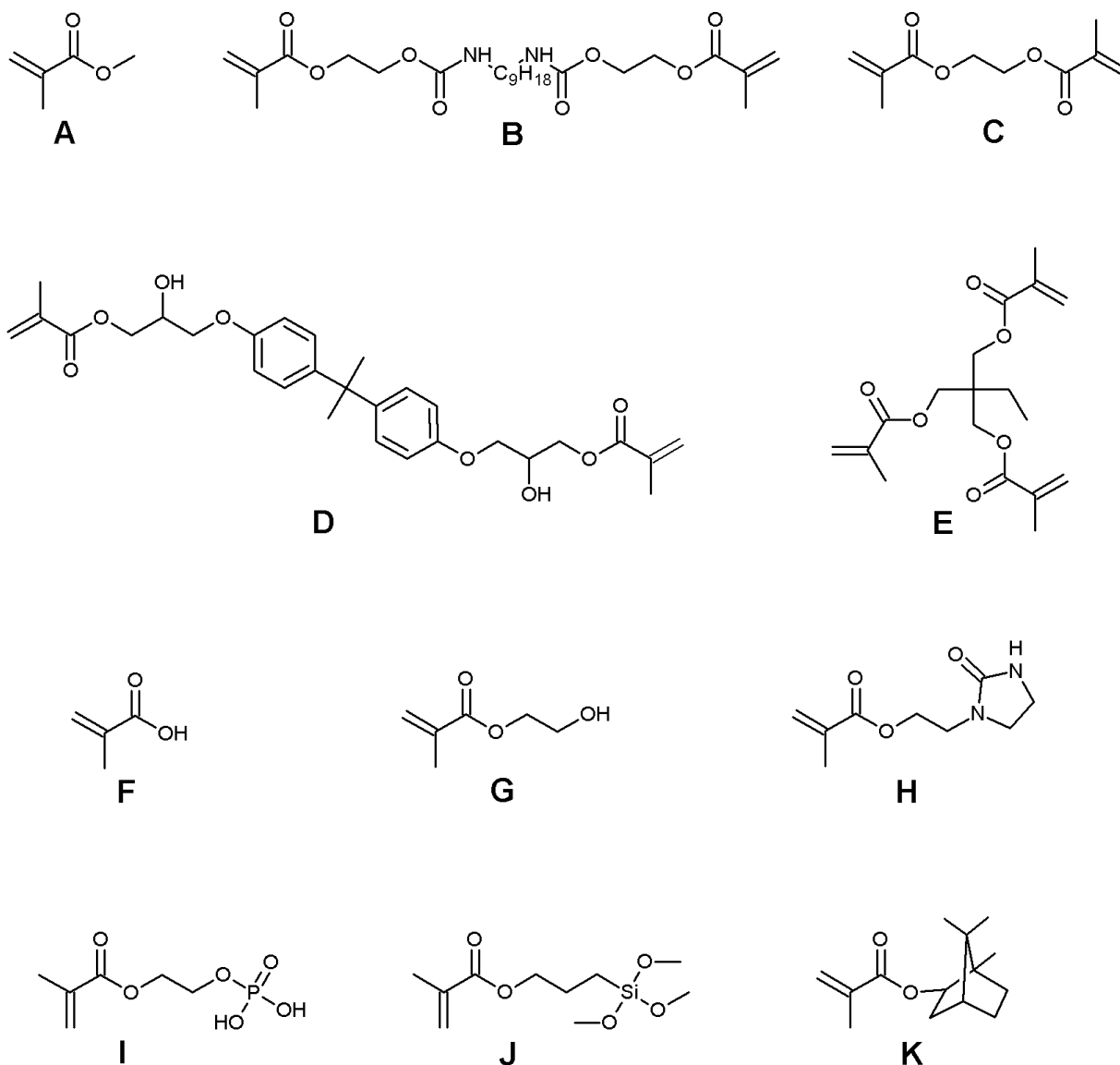


Abbildung 53: Übersicht über die verwendeten Methacrylat-Monomere. Basismonomer von Polymethylmethacrylat (PMMA): **(A)** Methylmethacrylat (MMA); Vernetzer: **(B)** Diurethandimethacrylat (HEMATMDI), **(C)** Ethylen-glykoldimethacrylat (EGDMA), **(D)** "Bowen-Verbindung", **(E)** Trimethylol-propantrimethacrylat (TMPTMA); Monomere mit polaren Substituenten: **(F)** Methacrylsäure (GMAA), **(G)** 2-Hydroxyethylmethacrylat (HEMA), **(H)** N-(2-Methacryloyloxyethyl)ethylen-Harnstoff (MEEU 25 M), **(I)** HEMA-Phosphat, **(J)** 3-Methacryloxypropyltrimethoxysilan (MEMO) und Monomer mit sperrigem Rest **(K)** Isobornylmethacrylat (IBOMA).

Als Radikalstarter für die radikalische Polymerisation werden typischerweise organische Peroxide ($R-O-O-R'$; z.B. Dibenzoylperoxid; DBPO) oder Azo-Verbindungen verwendet ($R-N=N-R'$; z.B. Azoisobutyronitril; AIBN), die beide durch das Einwirken von Wärme Radikale bilden können.^[151-152, 155]

In dieser Arbeit wurde das Dibenzoylperoxid verwendet, das bei erhöhter Temperatur (ca. 70 °C) zuerst durch eine homolytische Spaltung der Peroxidbindung Benzoyloxyradikale bildet, die dann unter CO_2 -Abspaltung polymerisationsauslösende Phenylradikale bilden (Abbildung 54).^[151]

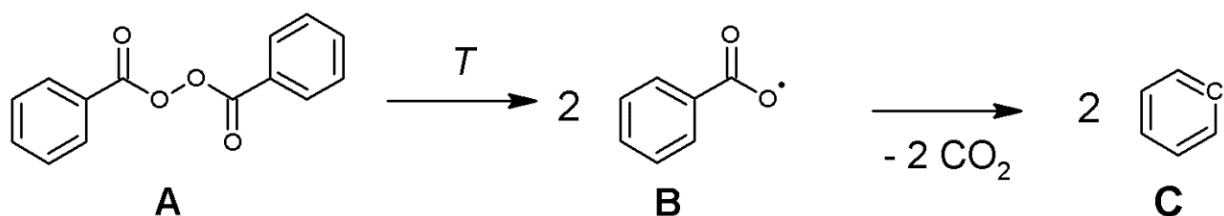


Abbildung 54: Bildung polymerisationsauslösender Radikale ausgehend von (A) Dibenzoylperoxid, das bei Temperaturen von ca. 70 °C (B) zwei Benzoyloxyradikale bildet, die dann unter CO_2 -Abspaltung zu (C) zwei Phenylradikalen reagieren (Schema modifiziert nach Tieke^[151]).

Neben der thermischen Spaltung kann die Spaltung der Peroxid-Bindung auch bei Raumtemperatur erfolgen. Hierzu wurde das tertiäre Amin N,N-Dimethyl-p-toluidin, verwendet (Abbildung 55).^[11, 156]

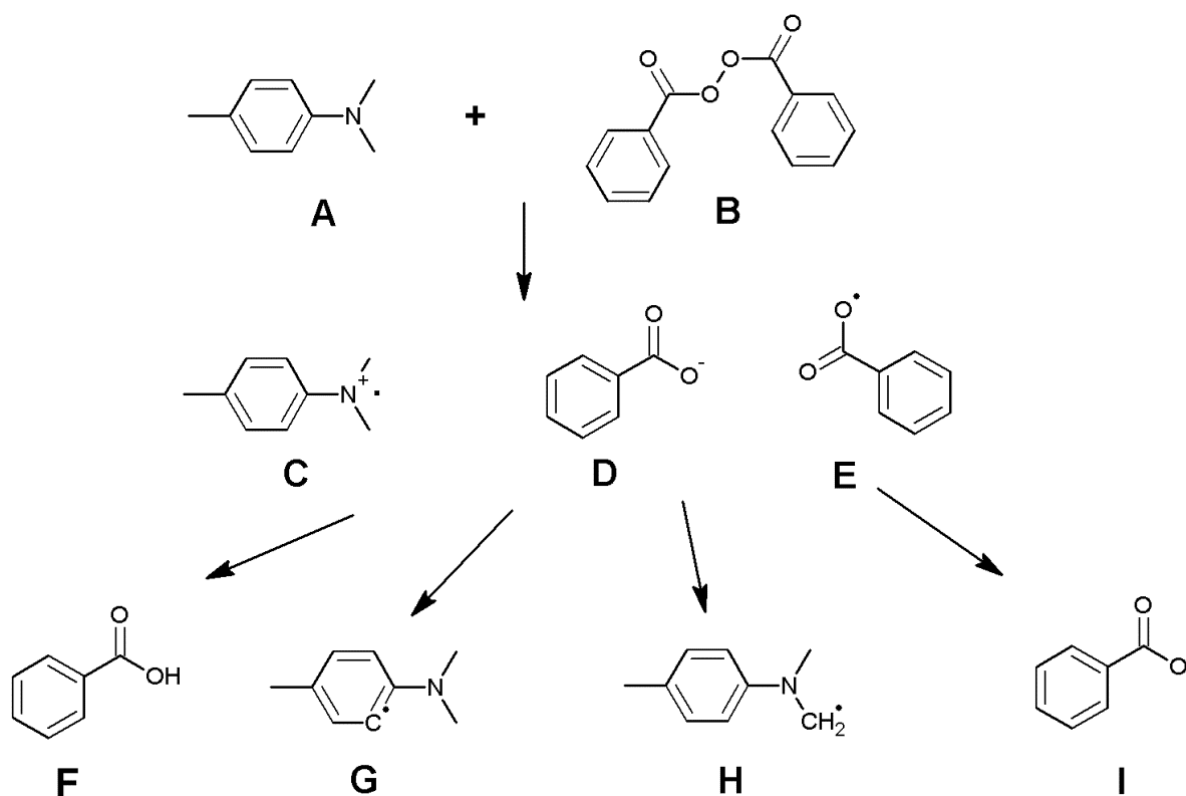


Abbildung 55: Bildung polymerisationsauslösender Radikale bei Raumtemperatur durch die Reaktion von (A) N,N-Dimethyl-p-toluidin mit (B) Dibenzoylperoxid. (C, D, E) Zwischenprodukte, (F) Benzoesäure, (G) Aromatisches Radikal, (H) Desalkylierung, (I) Benzoyloxyradikale. Nur die Benzoyloxyradikale können die Polymerisation starten (Schema nach Groß^[11]).

Formal handelt bei dem N,N-Dimethyl-p-toluidin und dem Dibenzoylperoxid um ein Redoxsystem, wobei der Stickstoff des N,N-Dimethyl-p-toluidins (Oxidationszahl: -III; A) zu einem Aminradikalkation oxidiert wird (-II; C) und ein Sauerstoff der Peroxidbindung des Dibenzoylperoxids (-I; B) zum Benzoat reduziert wird (-II; D).

Wie bei der thermischen Peroxidspaltung entstehen Benzoyloxyradikale (E, I), die zu Phenylradikalen reagieren können. Darüber hinaus bilden sich weitere Produkte, wie z.B. die Benzoesäure (F) und weitere Radikale (G, H), die die Polymerisation aber nicht initiieren können. Durch den Angriff auf den Benzolkern (G) können auch Verfärbungen der Polymerphase auftreten.^[11]

5.4.4 Synthese und Charakterisierung der synthetischen Komposite sowie Vergleich mit natürlichen Haifischzähnen

Die Darstellung der Komposite erfolgte in zwei verschiedenen Varianten. Erstens durch eine Ultrazentrifugation des Fluorapatits bzw. Hydroxylapatits in einer flüssigen Comonomermischung und eine darauf folgende thermisch initiierte Polymerisation und zweitens durch eine Polymerisation während der Ultrazentrifugation bei Raumtemperatur durch einen Amin-Zusatz (N,N-Dimethyl-p-toluidin) zum Dibenzoylperoxid (Reaktionsschema in Abbildung 55).

Bei offenen Reaktionsgefäßen verdunstete das MMA sehr schnell, und es stand nicht mehr ausreichend MMA für die Polymerisation zur Verfügung. Die Polymerisationen wurden deshalb in geschlossenen 1,5 mL Eppendorfgefäßen durchgeführt. Dies hatte auch den Vorteil, dass man die Komposite nach der Ultrazentrifugation und Polymerisation gut vom Eppendorfgefäß trennen konnte. Durch die Ultrazentrifugation in einem Eppendorfgefäß sammelte sich der Fluorapatit-Feststoff am Boden (Abbildung 56). Nach der Polymerisation bildete sich am Boden ein Komposit aus Fluorapatit und Polymer. Der obere (transparente) Teil bestand nur aus Polymer. Für die Analysen wurden die Komposite mechanisch von der überschüssigen Polymermatrix getrennt. Durch eine sehr langsame Polymerisation der Comonomermischungen (mehrere Tage bei 40 °C und danach schrittweise Erhöhung bis zu 100 °C) wurden blasenfreie Komposite erhalten. Erhitzte man die Comonomermischung in kurzer Zeit zu stark, so bildeten sich Gasbläschen, die auf die Wärmeentwicklung während der Polymerisation zurückzuführen waren (Verdampfen des Monomers).



Abbildung 56: Foto eines typischen Fluorapatit/Polymer-Komposits nach der Ultrazentrifugation und anschließender thermisch initiierten Polymerisation in einem 1,5 mL Eppendorfgesäß. Fluorapatit sammelt sich am Boden (Fluorapatit/Polymer-Komposit), oberhalb befindet sich die überschüssige (transparente) Polymermatrix.

Die mechanischen Eigenschaften ausgewählter Komposite wurden analog zu der Härtemessung von Haifischzähnen (Kapitel 5.1.5) mittels Vickers-Mikrohärtetests bestimmt. Somit kann die Mikrohärte der synthetischen Komposite direkt mit dem natürlichen Vorbild verglichen werden.

Am Komposit **17** wurden exemplarisch die Indentationen nach der Vickers-Härteprüfung mittels Rasterelektronenmikroskopie analysiert. Die Durchmesser der Eindruckflächen lagen jeweils im Bereich von ca. 50-140 μm . Das bedeutet, dass hier große Bereiche der Probe analysiert wurden und die Härte somit über viele Fluorapatit-Kristallite, die in die Polymermatrix eingearbeitet waren, gemittelt wurde.

In den meisten Proben ist das Komposit härter als die dazugehörige Polymermatrix alleine (Tabelle 26). Häufig ist das Komposit in der Mitte härter als am Rand (besonders bei den Kompositen **7-9** und **16-18**; Tabelle 26). Das lässt sich auf das Schrumpfen der Polymermatrix zurückführen, die sich nach innen hin zusammenzieht, sodass die Fluorapatit-Kristallite im äußeren Bereich der Komposite nicht mehr ausreichend mit organischer Matrix bedeckt sind. Der Polymerrückgang am Rand des Komposits lässt sich durch rasterelektronenmikroskopische Aufnahmen bestätigen. Weiter im Zentrum des

Komposits ist wieder ausreichend Polymermatrix enthalten, um die Fluorapatit-Kristallite in der Matrix zu fixieren (Abbildung 57).

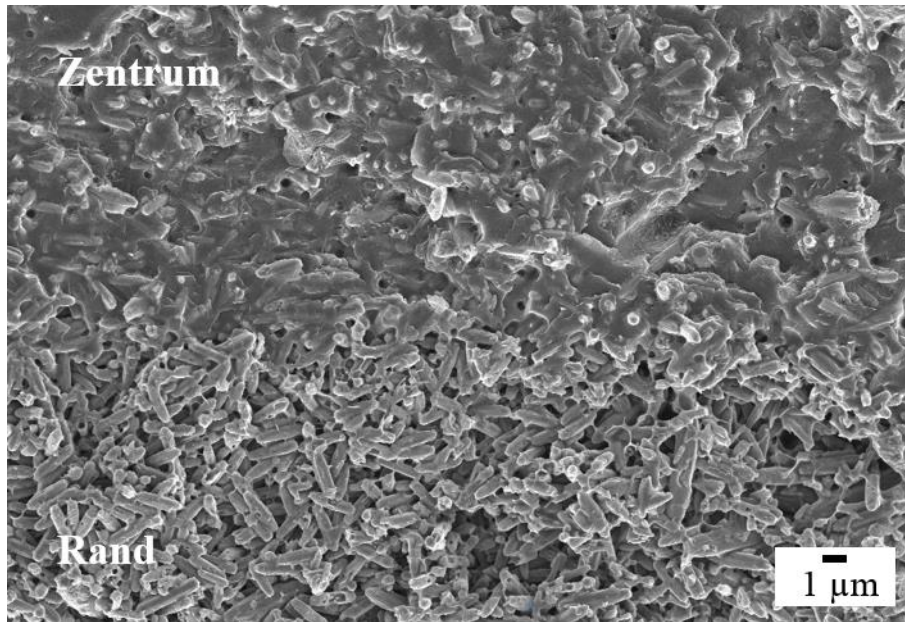


Abbildung 57: Rasterelektronenmikroskopische Aufnahme eines Fluorapatit/Polymer-Komposits am Beispiel von Probe **9**. Im Zentrum des Komposits (oben) ist die Polymermatrix sehr viel homogener verteilt als am Rand (unten), wo nur vereinzelte organische Fäden zu erkennen sind, die an den Fluorapatit-Kristalliten haften. Eine deutliche Grenze zwischen Rand (wenig Polymermatrix) und Zentrum (viel Polymermatrix) ist sichtbar.

Insgesamt zeigen alle Komposite vergleichbare Härtewerte (Tabelle 26).

Tabelle 26: Vickers-Mikrohärtemessungen an unterschiedliche Fluorapatit/Polymer-Kompositen (Zentrum: Härte im Innenbereich des Komposits; Außen: Härte am äußeren Rand des Komposits, d.h. in der Nähe des Rands des 1,5 mL Eppendorfgefäßes) im Vergleich zur reinen Polymermatrix alleine. Für alle drei Bereiche wurden bei allen Proben 10 Indentationen durchgeführt. Aufgeführt ist der arithmetische Mittelwert der Härtewerte in GPa mit der dazugehörigen Standardabweichung.

Komposit	Härte / GPa Komposit Zentrum	Härte / GPa Komposit Außen	Härte / GPa Polymer- matrix
1 FAP _{20 µm} /MMA/EGDMA/GMAA	0,31±0,03	0,35±0,02	0,22±0,02
2 FAP _{2 µm} /MMA/EGDMA/GMAA	0,23±0,05	0,26±0,04	0,19±0,01
3 FAP _{2 µm} /MMA/EGDMA/GMAA/ PMMA _{100 µm}	0,29±0,05	0,22±0,03	0,20±0,02
4 FAP _{2 µm} /MMA/EGDMA/GMAA/ PMMA _{35 µm}	0,26±0,03	0,30±0,02	0,18±0,01
5 FAP _{2 µm} /MMA/EGDMA/HEMA	0,27±0,02	0,25±0,04	0,21±0,01
6 FAP ^{„Bündel“} /MMA/EGDMA/GMAA	0,31±0,02	0,28±0,01	0,22±0,01
7 FAP _{2 µm} /MMA/EGDMA/HEMA- Phosphat	0,31±0,03	0,11±0,04	0,17±0,01
8 FAP _{2 µm} /MMA/EGDMA/MEMO	0,35±0,03	0,10±0,03	0,18±0,01
9 FAP _{2 µm} /MMA/EGDMA/IBOMA/ GMAA	0,33±0,03	0,13±0,06	0,18±0,01
10 FAP _{2 µm} /MMA/EGDMA/GMAA/ Amin	0,36±0,04	0,33±0,05	0,14±0,01
11 FAP _{20 µm} /MMA/EGDMA/HEMA/ Amin	0,19±0,03	0,20±0,07	0,11±0,01
12 HAP/MMA/EGDMA/GMAA/Amin	0,32±0,06	0,26±0,07	0,20±0,01
13 FAP _{20 µm} /MMA/EGDMA/MEMO/ Amin	0,25±0,03	0,21±0,02	0,11±0,00
14 FAP _{20 µm} /MMA/EGDMA/GMAA/ Bowen	0,39±0,05	0,38±0,06	0,23±0,01
15 FAP _{2 µm} /MMA/TMPTMA/GMAA	0,33±0,03	0,20±0,03	0,15±0,03
16 FAP _{2 µm} /MMA/EGDMA/GMAA/ DBPO _{Dicyclohexylphthalat}	0,42±0,03	0,12±0,04	0,22±0,01
17 FAP _{2 µm} /MMA/HEMATMDI/GMAA	0,31±0,11	0,10±0,01	0,21±0,00
18 FAP _{2 µm} /MMA/EGDMA/MEEU25M	0,39±0,02	0,13±0,03	0,23±0,00
19 FAP _{2 µm} -Silica/MMA/EGDMA/MEMO	0,40±0,05	0,11±0,03	0,18±0,01

Zwischen den eingesetzten Polymermatrizes gibt es leichte Unterschiede in den Härtewerten.

Das in den Kompositen **3** und **4** zugesetzte bereits polymerisierte PMMA wurde eingesetzt, um das Schrumpfen der Polymerphase zu minimieren.^[11] Es zeigt sich allerdings, dass dieser PMMA-Zusatz keinen direkten Einfluss auf die Härte hat. Der Anteil an organischer Matrix innerhalb der Komposite wird durch den Zusatz von PMMA gesteigert. Strebt man also einen hohen Mineralgehalt innerhalb der Komposite an, so sollte man auf den PMMA-Zusatz verzichten bzw. nur geringe Mengen davon verwenden. Da das PMMA bereits polymerisiert ist, kann man davon ausgehen, dass der PMMA-Zusatz in einer Comonomermischung zum größten Teil nicht mehr mit den Monomeren reagiert.

Durch die Polymerisation während der Ultrazentrifugation mit dem Zusatz von N,N-Dimethyl-p-toluidin (Komposite **10-13**) lassen sich am Rand und im Zentrum der Komposite vergleichbare Härtewerte erzielen. Das Schrumpfen am Rand des Komposits kann somit deutlich minimiert werden. Die Härte der reinen Polymermatrix ist bei dem Zusatz von N,N-Dimethyl-p-toluidin etwas geringer als bei der thermisch initiierten Polymerisation. Dies liegt wahrscheinlich an den Nebenprodukten (wie z.B. der Benzoesäure in Abbildung 55), die durch den Amin-Zusatz entstehen und sich offenbar inhibierend auf die Polymerisation auswirken. Durch den Zusatz von Aminen kann sich die Polymerphase bräunlich verfärben, was durch den Angriff auf den Benzolkern des Anilin-Derivats zurückzuführen ist.^[11] In den hier dargestellten Kompositen spielt die Verfärbung der Polymerphase eine untergeordnete Rolle, da das Komposit einen hohen Gehalt an (weißem) Fluorapatit hat, und man somit keine signifikante Verfärbung feststellen kann. Die Standardabweichungen der Härtewerte sind bei den Kompositen meist höher als bei der reinen Polymermatrix. Dies liegt daran, dass das reine Polymer homogen aufgebaut ist. Bei den Kompositen gibt es hingegen eine größere strukturelle Inhomogenität. Dies liegt daran, dass sich harte Bereiche (Fluorapatit) und weiche Bereiche (Polymer) abwechseln und die mit der

Ultrazentrifugation erreichbare Anordnung der Fluorapatit-Kristallite nicht ausreichend ist, um die Kristallite wie im Enameloid anzuordnen.

Die höchsten Härtewerte für das Komposit im Zentrum und gleichzeitig auch am Rand wurden durch den Zusatz der "Bowen-Verbindung" erzielt (Komposit **14**). Durch dessen Zusatz kann die Härte somit gesteigert werden. Dies lässt sich durch seine vom Bisphenol A abgeleitete Struktur begründen, die sich in Epoxidharzen wiederfinden lässt.^[151] Zudem hat die "Bowen-Verbindung" eine hohe Molmasse ($M=512,59 \text{ g mol}^{-1}$), wodurch das Schrumpfen der Polymermatrix im Vergleich zum MMA ($M=100,12 \text{ g mol}^{-1}$) deutlich minimiert werden kann.^[11]

Die Wechselwirkung des Fluorapatits mit der Polymerphase wurde durch den Zusatz von Monomeren mit polaren Substituenten erreicht. In rasterelektronenmikroskopischen Aufnahmen zeigt sich diese Wechselwirkung, da sich das Polymer eng an die Fluorapatit-Kristallite schmiegt (Abbildung 58).

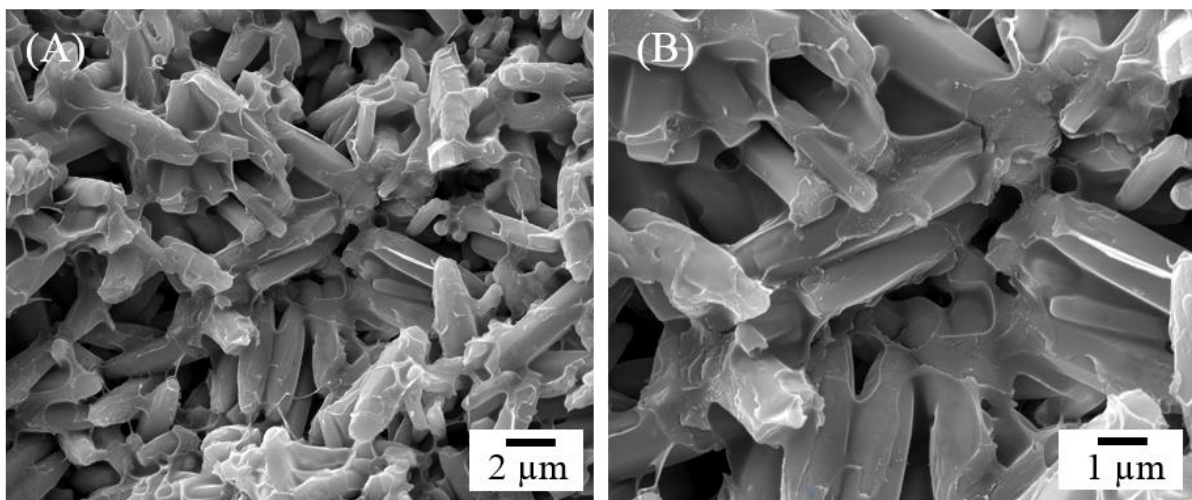


Abbildung 58: Rasterelektronenmikroskopische Aufnahmen des Randbereichs von Komposit **18** in unterschiedlichen Vergrößerungen. Die Polymerphase wechselwirkt hier durch den Zusatz des polaren Monomers MEEU25M (ein Harnstoffderivat, siehe Abbildung 53) gut mit den Fluorapatit-Kristalliten, wobei das Polymer an den Fluorapatit-Kristalliten haftet.

Die Stärke der Wechselwirkung zwischen der Polymerphase und den Fluorapatit-Kristalliten wurde in dieser Arbeit nicht analysiert. Theoretisch hängt die Wechselwirkung der Polymerphase mit dem Fluorapatit vor allem von der Polarität, den funktionellen Gruppen und der eingesetzten Menge der entsprechenden Monomere ab.

Eine direkte Abhängigkeit der verwendeten Apatit-Morphologie (2 μm und 20 μm lange Fluorapatit-Stäbchen bzw. Fluorapatit-Bündel oder Hydroxylapatit-Stäbchen) auf die resultierende Härte konnte nicht festgestellt werden (Tabelle 26).

Die Mikrostrukturen der vier härtesten Fluorapatit/Polymer-Komposite (Komposite **10**, **14**, **16**, **18**; siehe Tabelle 26) wurden mittels Rasterelektronenmikroskopie untersucht. Dazu wurden jeweils Bruchflächen analysiert, um die Strukturen innerhalb der Komposite untersuchen zu können (Abbildungen 59 und 60).

Bei den Kompositen **16** und **18** ist die Polymermatrix im Zentrum der Komposite sehr viel dichter als am Rand. Im Randbereich der Komposite (Abbildung 59A,C) gibt es nur Polymerfäden, die an den Fluorapatit-Kristalliten haften. Dies ist aber nicht ausreichend, um die Fluorapatit-Kristallite fest mit der Polymermatrix zu verbinden. Im Innenbereich der Komposite gibt es hingegen eine kompakte Polymerphase, in der die Fluorapatit-Kristallite fixiert sind (Abbildung 59B,D). Diese Beobachtungen bestätigen die Vickers-Mikrohärtemessungen (Tabelle 26). Im Innenbereich sind diese beiden Komposite deutlich härter (Komposit **16**: $0,42 \pm 0,03$ GPa; Komposit **18**: $0,39 \pm 0,02$ GPa) als am Rand (Komposit **16**: $0,12 \pm 0,04$ GPa; Komposit **18**: $0,13 \pm 0,03$ GPa).

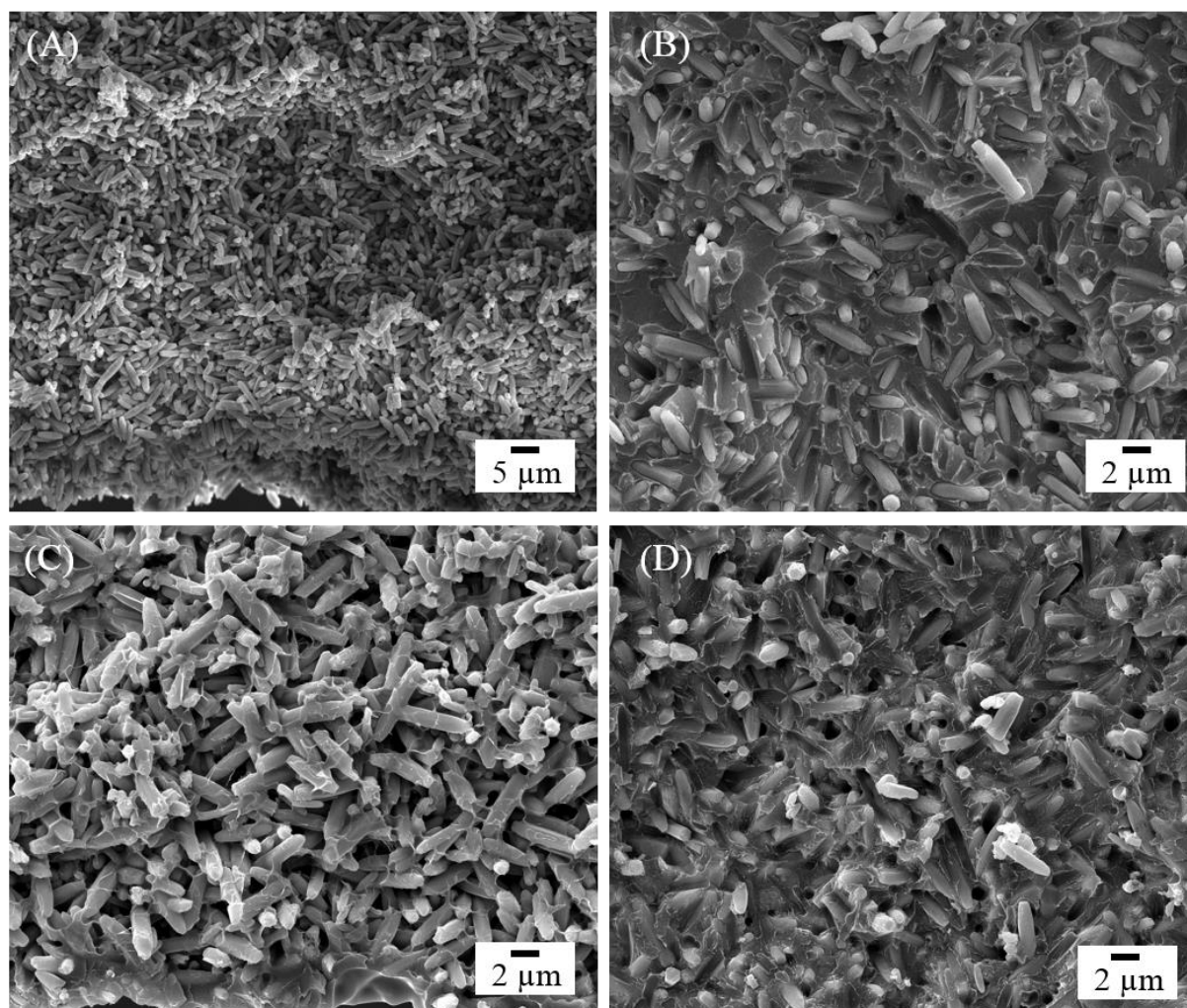


Abbildung 59: Rasterelektronenmikroskopische Untersuchungen an Bruchflächen zweier ausgewählter Fluorapatit/Polymer-Komposite: (A) Komposit **16** Randbereich, (B) Komposit **16** Innenbereich, (C) Komposit **18** Randbereich und (D) Komposit **18** Innenbereich. Bei beiden Kompositen ist die Polymerphase innen dichter als am Randbereich. Beide Komposite wurden durch Ultrazentrifugation und anschließende thermisch initiierte Polymerisation dargestellt.

Anders ist es hingegen bei den Kompositen **10** (Polymerisation während der Ultrazentrifugation mit einem Amin-Zusatz) und **14** (Zugabe der viskosen "Bowen-Verbindung" zur Comonomermischung). Hier gibt es auch am Rand eine dichte Polymermatrix (Abbildung 60A,C). Im Innenbereich gibt es wie bei den Kompositen **16** und **18** ebenfalls eine kompakte Polymerschicht (Abbildung

60B,D). Dies entspricht den Vickers-Mikrohärtewerten, die für diese beiden Komposite erhalten wurden, wobei die Härte im Innenbereich (Komposit **10**: $0,36 \pm 0,04$ GPa; Komposit **14**: $0,39 \pm 0,05$ GPa) vergleichbar mit dem im Außenbereich (Komposit **10**: $0,33 \pm 0,05$ GPa; Komposit **14**: $0,38 \pm 0,06$ GPa) ist.

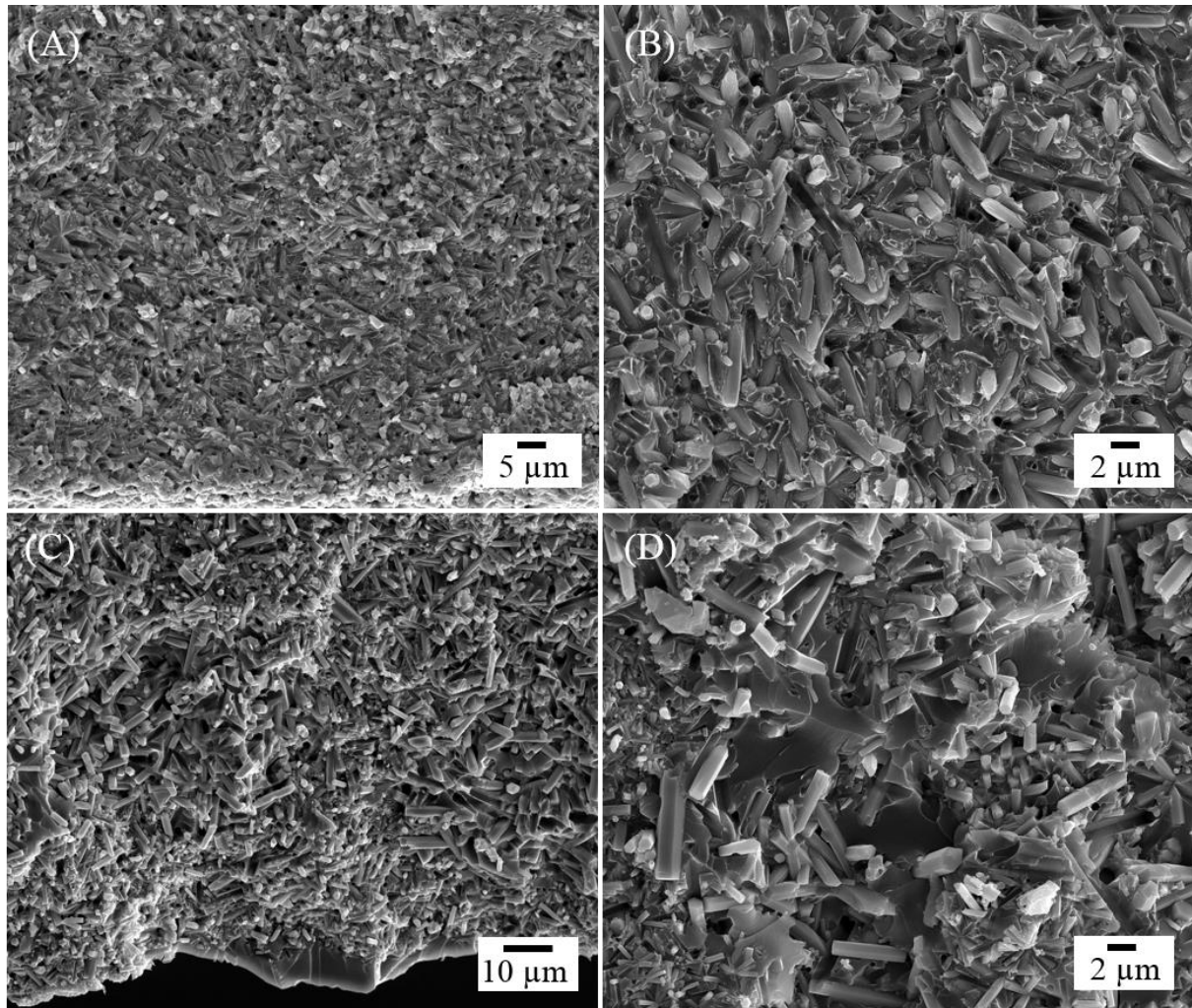


Abbildung 60: Rasterelektronenmikroskopische Untersuchungen an Bruchflächen ausgewählter Fluorapatit/Polymer-Komposite: (A) Komposit **10** Randbereich, (B) Komposit **10** Innenbereich, (C) Komposit **14** Randbereich und (D) Komposit **14** Innenbereich. Bei beiden Kompositen ist die Polymerphase gleichmäßig am Randbereich und im Innenbereich verteilt.

Zusammenfassend lassen sich kompakte Fluorapatit/Polymer-Komposite, die am Rand genauso hart sind wie im Zentrum, vorzugsweise durch einen Amin-Zusatz

(d.h. durch eine Polymerisation bei Raumtemperatur während der Ultrazentrifugation) oder durch den Zusatz eines hochmolekularen Monomers (z.B. der "Bowen-Verbindung") erhalten.

Die rasterelektronenmikroskopischen Aufnahmen zeigen, dass der Polymeranteil durch den Zusatz der "Bowen-Verbindung" allerdings im Zentrum deutlich höher als bei dem Amin-Zusatz (Abbildung 60D). Dies liegt daran, dass die Comonomermischung durch den Zusatz der hochmolekularen "Bowen-Verbindung" sehr viskos ist und weniger Fluorapatit dispergiert werden kann als in einer niedrig viskosen Comonomermischung ohne den Zusatz der "Bowen-Verbindung".

Durch die Ultrazentrifugation des Fluorapatits in der flüssigen Comonomermischung wird der Mineralanteil in den Kompositen erhöht und ein dichtes Material erhalten.

Die Fluorapatit-Kristallite können durch die Ultrazentrifugation nicht im gesamten Komposit in eine Richtung orientiert werden. Die Kristallite sind in weiten Teilen des Komposits ungeordnet. Dies kann sowohl für Komposite, die nach der Ultrazentrifugation polymerisiert wurden, als auch für Komposite, die während der Ultrazentrifugation bei Raumtemperatur mit einem Amin-Zusatz polymerisiert wurden, beobachtet werden. Da durch die Polymerisation während der Ultrazentrifugation die Mikrostruktur des Komposits "eingefroren" wird, kann man davon ausgehen, dass die Ultrazentrifugation den Mineralanteil der Komposite erhöht (im Vergleich zur Sedimentation durch die natürliche Schwerkraft), die Fluorapatit-Kristallite durch diese Methode aber nicht ausreichend geordnet werden können.

Die Mikrohärtigkeit der synthetischen Komposite liegt bei ca. 0,3 GPa. Diese Härtewerte sind ähnlich zum Haifischzahn-Dentin (0,5-0,7 GPa), wobei das Enameloid mit einer Mikrohärtigkeit von 3-4 GPa noch härter ist. Die geringeren Härtewerte der synthetischen Komposite lassen sich durch den im Vergleich zum Enameloid hohen Anteil an organischer Matrix und die gleichzeitigen weniger

dichte Packung der Fluorapatit-Kristallite erklären. Der geologische Fluorapatit-Kristall, der keine organische Matrix enthält, ist noch härter als das Enameloid (4-7 GPa). Ein geringer Anteil an organischer Matrix führt somit zu einer Steigerung der Härte, wobei das Material folglich auch spröder ist. Allerdings reicht die Reduzierung des organischen Anteils innerhalb der Komposite nicht aus, um die Härte zu steigern, denn die Fluorapatit-Kristallite dürfen auch nicht ohne Kontakt mit der Polymermatrix vorliegen. Dies führt wiederum, wie oben beschrieben, zu einer Verringerung der Härte.

Tagtekin *et al.* untersuchten die Mikrohärtigkeit eines Ormocers und eines konventionellen Harzkomposits. Die maximale Härte wurde bei dem Ormocer (Typ Admira der Firma Voco, Cuxhaven) gefunden, d.h. $81,84 \pm 1,167$ VHN (Vickers-Mikrohärtigkeit; engl.: *Vickers hardness number*),^[157] was etwa $0,88 \pm 0,01$ GPa entspricht. Kommerziell verwendete Dentalkomposite sind demnach härter als die hier vorgestellten Fluorapatit/Polymer-Komposite. Allerdings werden bei den meisten konventionellen Kompositen zur Steigerung der Härte Quarzpartikel in die Polymermatrix eingearbeitet,^[11] die nicht den Vorteil haben, dass eine Remineralisation wie bei natürlichem Zähnen einsetzen kann.^[9, 158] Hier haben Fluorapatit/Polymer-Komposite einen Vorteil, da sie aus Calciumphosphat bestehen und herausgelöste Ionen prinzipiell wieder in das Material eingelagert werden können. Die höheren Härtewerte der konventionellen Komposite mit Quarzpartikeln als Füllstoff lassen sich auf die im Vergleich zum Fluorapatit höhere Härte des Quarzes zurückführen (Mohshärte Apatit: 5; Mohshärte Quarz: 7).^[159]

Überdies gibt es weitere dentale Materialien, die in der Zahnmedizin eingesetzt werden und die unterschiedliche Härten haben (Tabelle 27).

Tabelle 27: Übersicht über die Vickers-Mikrohärte einiger typischer dentaler Materialien, die in der Zahnmedizin eingesetzt werden, im Vergleich zu humanem Dentin und Enamel. Werte entnommen aus McCabe und Walls.^[13] Die Werte, die in der Literatur angegeben sind, wurden zur besseren Vergleichbarkeit in Berkovich-Härte umgerechnet. Die Härtewerte, die in dieser Arbeit erhalten wurden, sind mit einem Sternchen (*) gekennzeichnet.

Material	Vickers-Mikrohärte / kg mm⁻²	Umgerechnet in Berkovich-Härte / GPa
Dentalporzellan ^[13]	450	4,9
Co/Cr-Legierungen ^[13]	420	4,5
Haifischzahn Enameloid*	278-371	3-4
Humanes Enamel ^[13]	350	3,8
Haifischzahn Dentin*	46-65	0,5-0,7
Amalgam ^[13]	100	1,1
Humanes Dentin ^[13]	60	0,6
Fluorapatit/PMMA-Komposit*	28-37	0,3-0,4
Acrylharz ^[13]	20	0,2
Copolymer auf PMMA-Basis*	ca. 19	ca. 0,2

Die Härte der reinen Polymerphase beträgt in den hier vorgestellten Fluorapatit/Polymer-Kompositen ca. 0,2 GPa. Dies entspricht den Werten, die für ein Acrylharz angegeben wurden.^[13] Durch den Fluorapatit-Zusatz lässt sich somit die Härte im Vergleich zur reinen Polymermatrix steigern (0,3-0,4 GPa). Diese Werte liegen im Bereich des Dentins von humanen Zähnen und Haifischzähnen. Amalgam, welches typischerweise als Zahnfüllungsmaterial verwendet wird,^[12] ist härter als das Dentin, hat allerdings aus ästhetischen Gründen den Nachteil, dass es eine graue Farbe hat.^[12] Cobalt/Chrom-

Legierungen und Dentalporzellan sind härter als natürliches Enamel und Enameloid.

Die Übersicht in Tabelle 27 zeigt, dass es mit synthetischen Materialien sehr schwer ist, die Härte des natürlichen Enamels genau zu erreichen. Dies ist aber wichtig, da sonst die gegenüberliegende Zähne mit der Zeit abgeschliffen werden können (Härte > 4 GPa; z.B. Dentalporzellan und Co/Cr-Legierung) bzw. der Zahnersatz abgetragen werden kann (Härte < 3 GPa; z.B. Amalgam, Fluorapatit/PMMA-Komposit, Acrylharz). Zudem können bei unterschiedlichen mechanischen Eigenschaften des natürlichen Zahns im Vergleich zum Zahnersatzmaterial bei einer großen Kontaktfläche Grenzflächenprobleme auftreten.

Der organische Anteil innerhalb der Komposite wurde mittels Thermogravimetrie bestimmt. Hierzu wurden zuerst ein PMMA-Homopolymer und ein Copolymer (organische Phase von Komposit **1**) jeweils ohne Fluorapatit dargestellt und anschließend mittels Thermogravimetrie analysiert (Abbildung 61).

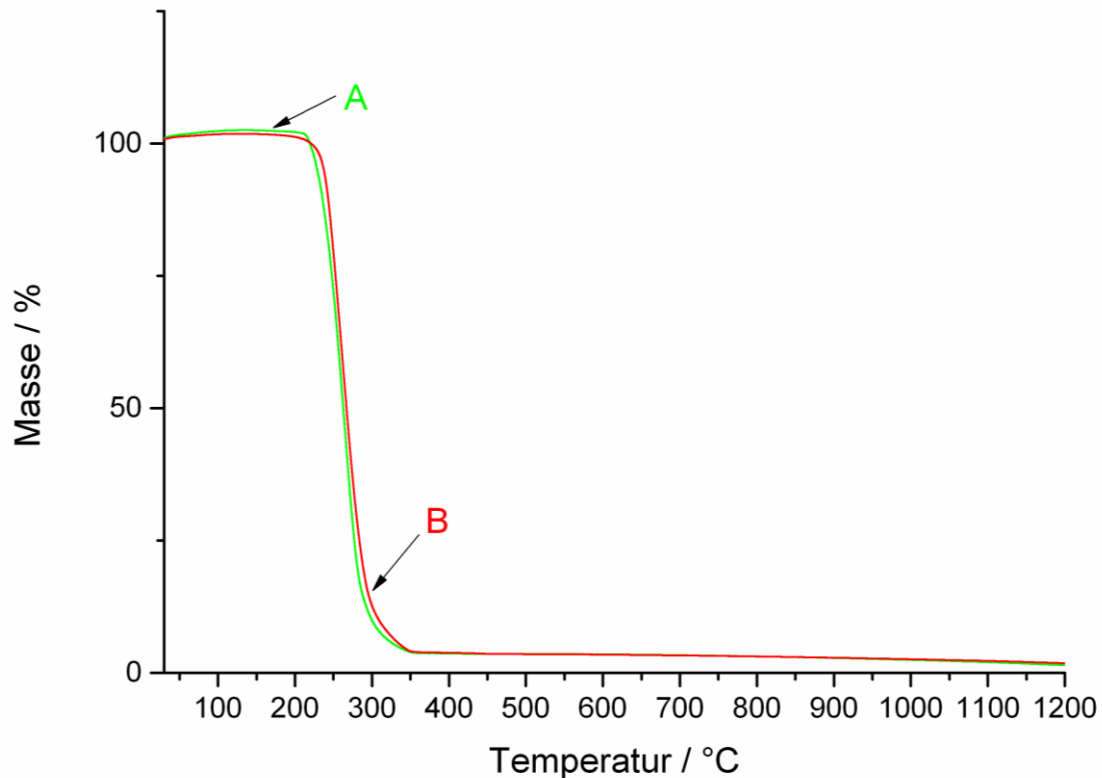


Abbildung 61: Beispiel einer typischen thermogravimetrischen Messkurve für ein PMMA-Homopolymer (A; grün) und ein Copolymer (organische Phase aus Komposit 1) (B; rot) unter einer dynamischen Sauerstoffatmosphäre (beide Proben jeweils ohne Fluorapatit).

Die Kurvenverläufe der Thermogramme beider Proben sind sehr ähnlich (Abbildung 61). Das zeigt, dass die zum MMA eingesetzten Comonomere (hier: 2 Gew% EGDMA und 1 Gew% GMAA) keinen signifikanten Einfluss auf die Thermogramme haben. Unterhalb 200 °C gibt es keinen messbaren Masseverlust, was darauf schließen lässt, dass der Wassergehalt innerhalb der Polymermatrix sehr gering ist. Der Hauptmasseverlust liegt im Bereich von ca. 200-500 °C (ca. 98 Gew% Masseverlust) und kann auf den Abbrand des Polymers zurückgeführt werden. Der Masseverlust bei 200-500 °C in den Kompositen entspricht also dem Anteil an Polymermatrix in den Kompositen.

Die thermogravimetrischen Messkurven aller Fluorapatit/Polymer-Komposite zeigen einen vergleichbaren Kurvenverlauf (siehe Beispiel in Abbildung 62),

wobei es je nach Komposit unterschiedliche Anteile an Polymermatrix gibt (Tabelle 30).

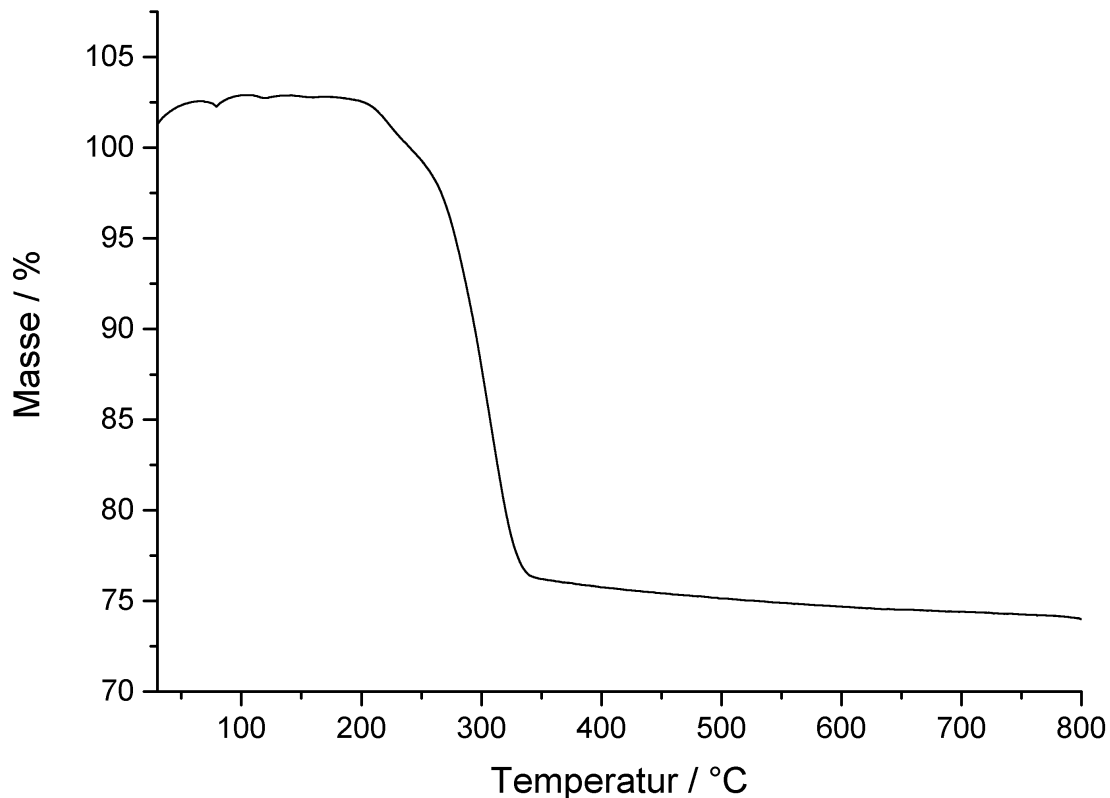


Abbildung 62: Beispiel einer thermogravimetrischen Messkurve der Komposite (hier von Probe 5) unter einer dynamischen Sauerstoffatmosphäre. Der Masseverlust bei 200-500 °C entspricht dem Abbrand der organischen Matrix und liegt bei 27,4 Gew%. Die organischen Anteile aller weiteren Komposite sind in Tabelle 30 aufgeführt.

Im Temperaturbereich von 30-200 °C gibt es keinen signifikanten Masseverlust. Das heißt, dass der Wasseranteil innerhalb der Komposite sehr gering ist.

Darüber hinaus kann mittels Thermogravimetrie auch eine Abschätzung über den Gehalt an nicht polymerisiertem MMA getroffen werden.

Ein Masseverlust, der durch die Freisetzung von noch freiem MMA auftreten könnte, müsste bei etwa 100 °C auftreten (Siedepunkt MMA: 100 °C^[149]). Da in den Thermogrammen aber kein signifikanter Masseverlust bei dieser Temperatur

bemerkbar ist, kann davon ausgegangen werden, dass das MMA zum größten Teil polymerisiert ist. Dies ist durch die lange Reaktionszeit (mehrere Tage bei 40 °C) und eine Endpolymerisation bei 100 °C (mehrere Stunden) zu erklären. Dabei ist ein möglichst geringer Restmonomergehalt wichtig für die spätere Anwendung der Fluorapatit/Polymer-Komposite als Zahnfüllungsmaterial, da die Monomere im Unterschied zum Polymer gesundheitsschädlich sein können.^[160-161]

Geringe Mengen Wasser können aus dem Radikalstarter Dibenzoylperoxid stammen, der typischerweise mit Wasser stabilisiert ist (75 Gew% Dibenzoylperoxid, 25 Gew% Wasser). Da aber nur 1 Gew% des Dibenzoylperoxids für die Polymerisation verwendet wurden, beträgt der Wasseranteil, der dadurch in das Komposit eingebracht wird, lediglich 0,25 Gew%. Um einen möglichen inhibierenden Effekt durch das Wasser auf die radikalische Polymerisation von MMA zu untersuchen, wurde bei einer Probe (Probe **16**) ein Dibenzoylperoxid verwendet, das nicht mit Wasser, sondern mit Dicyclohexylphthalat stabilisiert wurde.

Der Gehalt an noch freiem MMA in der Polymerphase (ohne Apatit) wurde durch Extraktion des MMAs mittels Dichlormethan und anschließender Analyse mittels Gaschromatographie ermittelt. Für diese Untersuchung wurden zwei PMMA-Homopolymere dargestellt, da MMA den Hauptanteil der hier vorgestellten Copolymere bildet (Tabelle 28).

Tabelle 28: Übersicht über die beiden unterschiedlich stabilisierten Varianten des Dibenzoylperoxids und ihre Auswirkungen auf den Gehalt an freien MMA in PMMA-Homopolymeren.

Probe	Peroxid- gehalt / Gew%	Stabilisator, Anteil / Gew%	Eingesetzte Peroxidmenge / Gew%	Freies MMA im Homopolymer / %
1	75	Wasser, 25	0,75	2,7
2	50	Dicyclohexylphthalat, 50	0,75	0,4

Der Gehalt an noch freiem MMA ist durch den Einsatz des mit Wasser stabilisiertem Dibenzoylperoxids deutlich höher (ca. 2,7 % freies MMA) als der bei dem Dibenzoylperoxid, das mit Dicyclohexylphthalat stabilisiert wurde (ca. 0,4 % freies MMA). Das zeigt, dass das Wasser einen inhibierenden Einfluss auf die Polymerisation von MMA zu PMMA hat. Somit ist der Einsatz eines wasserfreien Dibenzoylperoxids von Vorteil, um einen möglichst geringen Restmonomergehalt zu erreichen. In einem typischen PMMA-Knochenzement verbleiben ca. 2-6 % freies MMA, das aus dem polymerisierten Knochenzement diffundieren kann.^[16] Es wurde gezeigt, dass freies MMA zytotoxisch ist.^[160-161] Aufgrund des niedrigen Restmonomergehalts der Polymerphase können die hier vorgestellten Fluorapatit/Polymer-Komposite als biokompatibel angesehen werden. Die sehr gute Biokompatibilität von hydrothermal dargestellten Fluorapatit-Kristalliten wurde bereits von Chen *et al.* in Zellstudien nachgewiesen.^[64]

Um den Anteil an noch freiem MMA weiter zu senken, könnte der Anteil an Dibenzoylperoxid erhöht werden (> 1 Gew%, bezogen auf die Comonomermischung). Eine weitere Möglichkeit wäre der Einsatz eines anderen

Peroxids, das bei höherer Temperatur als das Dibenzoylperoxid zerfällt, sodass bei Temperaturerhöhung wieder neue polymerisationsauslösende Radikale gebildet werden. Neben Dibenzoylperoxid können z.B. *tert.*-Butylperoxybenzoat oder *tert.*-Butylperacetat verwendet werden (Tabelle 29).^[152]

Tabelle 29: Übersicht über verschiedene organische Peroxide, die zur radikalischen Polymerisation verwendet werden können. Bei den hier angegebenen Temperaturen sind demnach nach 10 h die Hälfte der Peroxidmoleküle zerfallen. Die Werte wurden entnommen aus Sheppard und Kamath^[152].

Peroxid	10 h $t_{1/2}$ in Benzol
Dibenzoylperoxid	73 °C
<i>tert.</i> -Butylperacetat	102 °C
<i>tert.</i> -Butylperoxybenzoat	105 °C

Der Anteil an organischer Matrix bei allen Kompositen liegt im Bereich von 23-50 Gew% (Tabelle 30). Eine Ausnahme bildet das Komposit **12** (Anteil organischer Matrix: 70,1 Gew%). Hier war die Polymerisation durch den Amin-Zusatz schon so weit fortgeschritten (d.h. die organische Matrix war schon sehr viskos), so dass es nicht möglich war, durch Ultrazentrifugation eine dichte Packung der Fluorapatit-Kristallite zu erhalten. In den anderen Proben wurde eine dichte Packung der Fluorapatit-Kristallite erhalten.

Insgesamt ist der Anteil an Polymermatrix in den synthetischen Kompositen höher als in natürlichen Haifischzähnen (Dentin: ca. 15-20 Gew%; Enameloid: ca. 5-8 Gew%). In natürlichem Haifischzahn-Enameloid ist der Anteil an organischer Matrix geringer, weil die Kristallite sehr viel dichter gepackt sind als in den hier vorgestellten synthetischen Fluorapatit/Polymer-Kompositen.

Tabelle 30: Thermogravimetrische Analysen der Fluorapatit/Polymer-Komposite. Der organische Anteil bezieht sich jeweils auf den Masseverlust im Temperaturbereich 200-500 °C.

Komposit	Anteil an Polymermatrix / Gew%
1 FAP _{20 µm} /MMA/EGDMA/GMAA	40,0
2 FAP _{2 µm} /MMA/EGDMA/GMAA	23,4
3 FAP _{2 µm} /MMA/EGDMA/GMAA/PMMA _{100 µm}	40,9
4 FAP _{2 µm} /MMA/EGDMA/GMAA/PMMA _{35 µm}	43,5
5 FAP _{2 µm} /MMA/EGDMA/HEMA	27,4
6 FAP ^{„Bündel“} /MMA/EGDMA/GMAA	50,1
7 FAP _{2 µm} /MMA/EGDMA/HEMA-Phosphat	34,7
8 FAP _{2 µm} /MMA/EGDMA/MEMO	33,2
9 FAP _{2 µm} /MMA/EGDMA/IBOMA/GMAA	38,2
10 FAP _{2 µm} /MMA/EGDMA/GMAA/Amin	33,8
11 FAP _{20 µm} /MMA/EGDMA/HEMA/Amin	46,3
12 HAP/MMA/EGDMA/GMAA/Amin	70,1
13 FAP _{20 µm} /MMA/EGDMA/MEMO/Amin	46,2
14 FAP _{20 µm} /MMA/EGDMA/GMAA/Bowen	39,4
15 FAP _{2 µm} /MMA/TMPTMA/GMAA	26,4
16 FAP _{2 µm} /MMA/EGDMA/GMAA/ DBPO _{Dicyclohexylphthalat}	44,0
17 FAP _{2 µm} /MMA/HEMATMDI/GMAA	33,0
18 FAP _{2 µm} /MMA/EGDMA/MEEU25M	32,9

Zur besseren Anschaulichkeit wurde die Mikrohärtigkeit der Komposite gegen den Mineralanteil der Komposite aufgetragen (Abbildung 63). Ein Zusammenhang zwischen der Mikrohärtigkeit der Komposite und des Mineralanteils innerhalb der Komposite konnte nicht festgestellt werden.

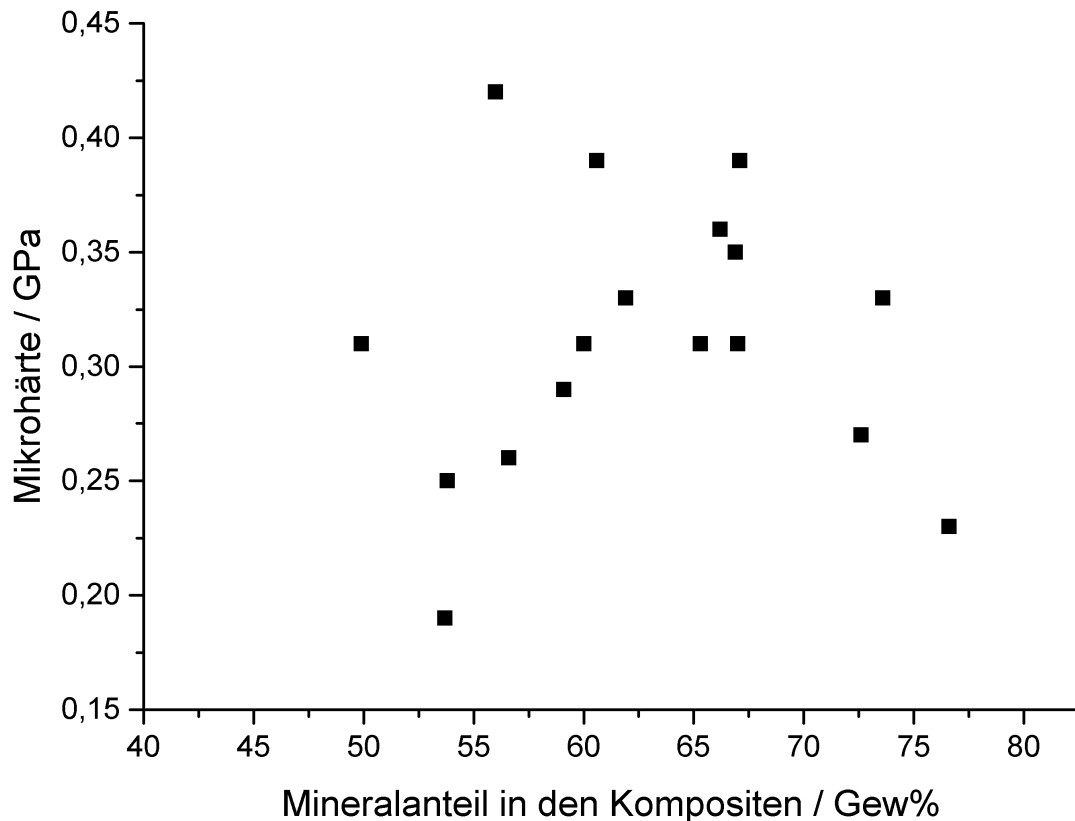


Abbildung 63: Korrelation von Vickers-Mikrohärte und Mineralanteil (bestimmt mittels Thermogravimetrie) der synthetischen Komposite. Ein Zusammenhang zwischen Mikrohärte und Mineralanteil wurde nicht festgestellt.

Um den Anteil an organischer Matrix innerhalb der Komposite zu reduzieren und eine bessere Anordnung der Fluorapatit-Kristallite zu erzielen, wurde Fluorapatit auf Eisen-Substraten dargestellt.^[64] Das Wachstum der Fluorapatit-Kristallite findet während der Hydrothermalsynthese in Wasser statt, somit handelt es sich strenggenommen nicht um das Wachstum auf einer chemisch reinen Eisen-Oberfläche. Die Oberfläche des Eisen-Substrats wird unter diesen Bedingungen oxidiert und es bildet sich Eisen(III)-oxid Hydrat $\text{FeO}(\text{OH})$ (" $\text{Fe}_2\text{O}_3 \cdot \text{H}_2\text{O}$ "),^[57] worauf die Fluorapatit-Kristallite kristallisieren. Die Fluorapatit-Kristallite sind senkrecht zum Eisen-Substrat orientiert und sind dicht gepackt, wobei es eine einheitliche Schichtdicke von ca. 1-1,5 μm gibt (Abbildung 64).

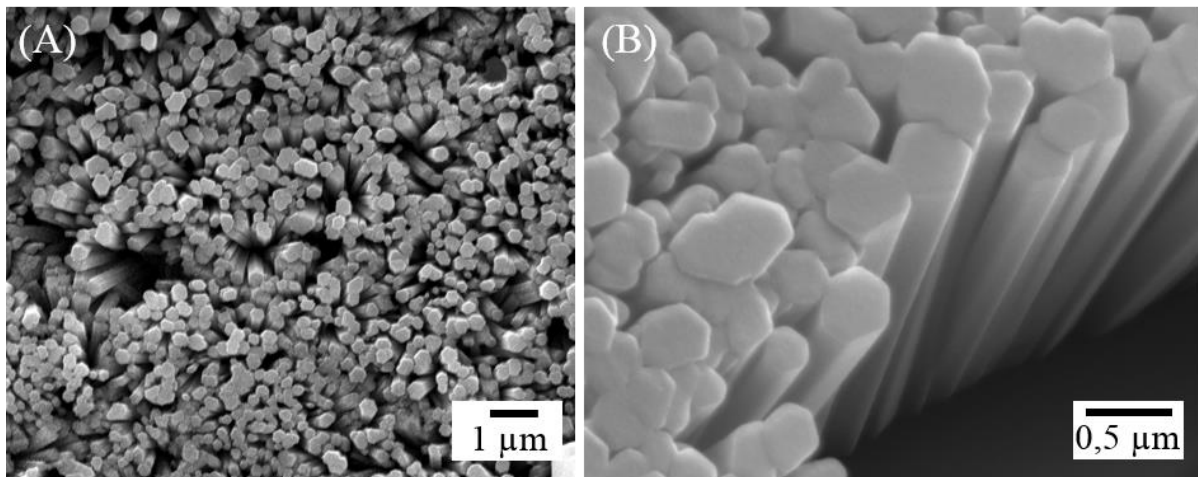


Abbildung 64: Rasterelektronenmikroskopische Aufnahmen eines auf Eisen mittels Hydrothermalsynthese gewachsenen Fluorapatit-Films. (A) Die Fluorapatit-Kristallite sind alle senkrecht zur Substratoberfläche orientiert und (B) die Schichtdicke beträgt ca. 1-1,5 µm.

Chemisch wurde der Fluorapatit-Film mittels energiedispersiver Röntgenspektroskopie untersucht (Abbildung 65). Neben den Elementen Calcium, Phosphor, Sauerstoff und Fluor, die dem Fluorapatit zuzuordnen sind, gibt es darüber hinaus auch Signale für Natrium, die auf den Einbau von Natriumionen in das Apatit-Gitter schließen lassen. Dieses wurde auch für die Fluorapatit-Kristallite beobachtet, die ohne Eisen-Substrat kristallisiert wurden (Kapitel 5.4.2). Die Natriumionen stammen aus den Edukten (EDTA-Ca-Na₂, NaH₂PO₄·H₂O und NaF). Insgesamt zeigt die chemische Analyse, dass es sich bei dem auf Eisen gewachsenen Film um Fluorapatit handelt, der chemisch vergleichbar mit dem Fluorapatit ist, der ohne Substrat kristallisiert wurde.

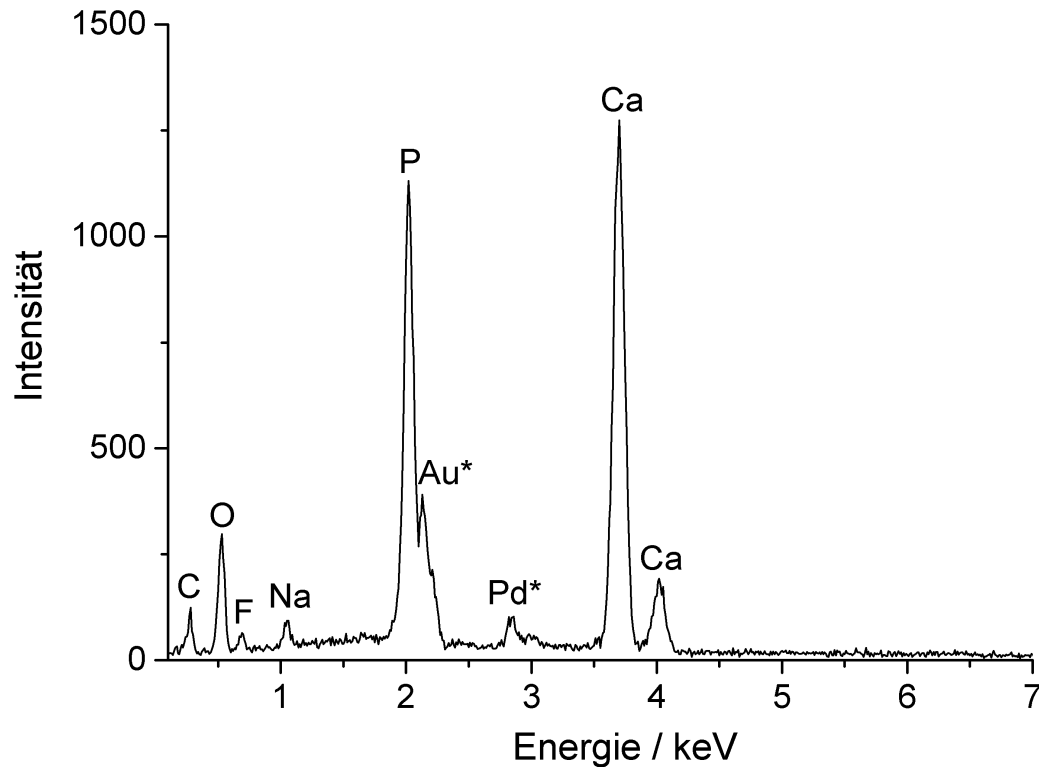


Abbildung 65: Ein energiedispersives Röntgenspektrum eines hydrothermal auf einem Eisen-Substrat gewachsenen Fluorapatit-Films zeigt typische Signale für Fluorapatit. Die Signale für Gold und Palladium, gekennzeichnet mit einem Sternchen (*), stammen nicht von der Probe selbst, sondern von der Bedampfung der Probe.

Neben dem dichten Fluorapatit-Film (Abbildung 64) bilden sich auch wesentlich größere und längere Fluorapatit-Kristallite (Abbildung 66). Diese sind in ihren Dimensionen (Länge ca. 10 μm und Breite einige Mikrometer) vergleichbar mit den Fluorapatit-Kristalliten, die ohne Eisen-Substrat erhalten wurden (siehe Kapitel 5.4.2). Diese größeren Kristallite konnten auch durch das mehrmalige Waschen des Fluorapatit-Films mit Wasser nicht entfernt werden.

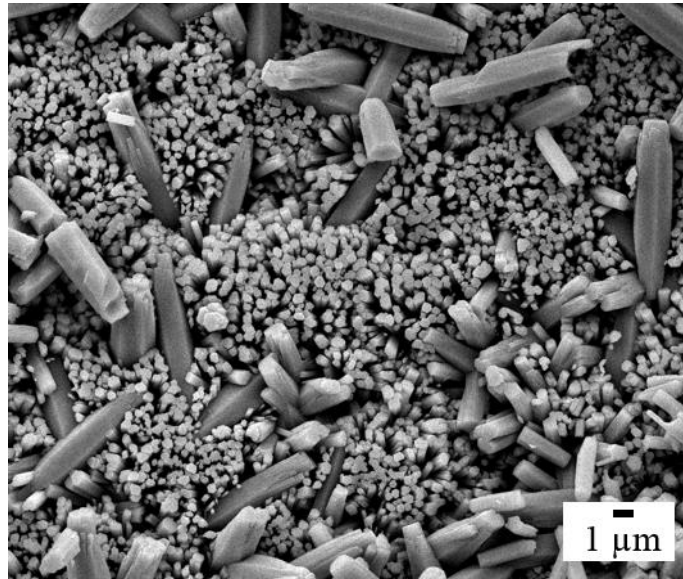


Abbildung 66: Rasterelektronenmikroskopische Aufnahme eines auf einem Eisen-Substrat gewachsenen Fluorapatit-Films. Neben dem Fluorapatit-Film (vgl. Abbildung 64) gibt es auch deutlich größere Fluorapatit-Kristallite.

Chen *et al.* führten die Synthese neben Eisen auch auf anderen Substraten wie z.B. Titan und Glas durch, konnten aber keinen so dicht gepackten Fluorapatit-Film wie auf dem Eisen-Substrat feststellen.^[64] Somit ist das Wachstum abhängig vom Substrat. Das Eisen-Substrat ermöglicht also eine gleichzeitige Keimbildung und ein bevorzugtes Wachstum in die kristallographische *c*-Richtung.

Zur Untersuchung, ob dieser Fluorapatit-Film geeignet ist, um diesen in die Komposite einzuarbeiten, wurde der Fluorapatit-Film zusammen mit dem Eisen-Substrat in eine PMMA-Matrix eingebettet. Nach dem Abschleifen der überschüssigen Polymermatrix, die sich oberhalb des Fluorapatit-Films befand, wurde das Fluorapatit/Polymer-Komposit sichtbar (Abbildung 67).

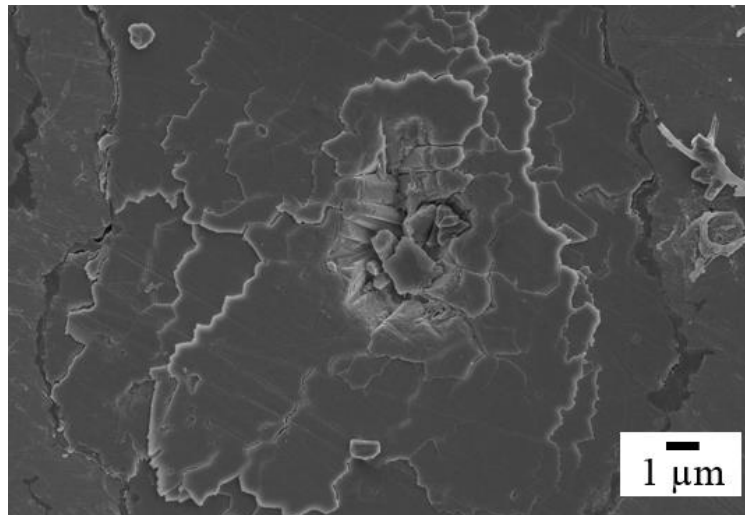


Abbildung 67: Rasterelektronenmikroskopische Aufnahme eines auf einem Eisen-Substrat gewachsenen Fluorapatit-Films, der anschließend in einer PMMA-Matrix eingebettet wurde (Aufnahme nach dem Abschleifen der überschüssigen Polymermatrix).

Zur Nutzung dieses Fluorapatit-Films, beispielsweise als äußeren Teil eines synthetischen Komposits, ist eine Erhöhung der Schichtdicke ($> 100\text{ }\mu\text{m}$) notwendig. Dies ist auch wichtig, um das Komposit später vom Eisen-Substrat abtrennen zu können. Hierzu wurden verschiedene Versuche durchgeführt (Variation der Eduktkonzentrationen und der Reaktionszeit), die Schichtdicke konnte aber nicht signifikant erhöht werden.

Weitere Inspirationen zum Erreichen einer parallelen Anordnung der Fluorapatit-Kristallite innerhalb der Komposite lassen sich von der Synthese Perlmutter-ähnlicher Strukturen ableiten. Bei diesem Biomineral gibt es abwechselnd Schichten aus Aragonit und organischer Matrix (Proteine), wobei das Mineral parallel zueinander orientiert ist.^[162-163] Die Schichtdicke einer synthetischen "Perlmutter-Struktur" beträgt allerdings nur einige Mikrometer,^[162] was für eine Anwendung als Zahnfüllungsmaterial zu gering ist.

Überdies zeigten Erb *et al.*, dass sich Mikrometer-große Füllstoffe mit superparamagnetischen Nanopartikeln bedecken lassen, was dazu führt, dass die Füllstoffe in synthetischen Kompositen mithilfe von Magnetfeldern ausgerichtet

werden können.^[164] Inwieweit sich dieser Ansatz auf die Ausrichtung von Fluorapatit-Kristalliten in einer PMMA-basierenden Polymermatrix übertragen lässt, hängt dabei wesentlich davon ab, ob die superparamagnetischen Nanopartikel mit dem Fluorapatit ausreichend stark wechselwirken. Wenn dies gelänge, könnte man die Fluorapatit-Kristallite innerhalb einer Comonomermischung im Magnetfeld ausrichten und gleichzeitig die Polymerisation mit Dibenzoylperoxid/N,N-Dimethyl-p-toluidin bei Raumtemperatur starten, sodass die Ausrichtung der Fluorapatit-Kristallite im Komposit erhalten bliebe. Ob die Polymerisation (Schrumpfung, Hitzeentwicklung) einen Einfluss auf die Ordnung der Fluorapatit-Kristallite hat, müsste entsprechend getestet werden.

Die Wechselwirkung des Fluorapatits mit der Polymerphase kann auch durch die Umhüllung des Fluorapatits mit einer dünnen Silicaschicht nach der Stoeber-Methode erhöht werden.^[165-166]

Kozlova *et al.* zeigten, dass Calciumphosphat-Nanopartikel mit einer dünnen Silicaschicht umhüllt werden können und daran organische Moleküle kovalent gebunden werden können. Die Silicaschicht wurde durch die Hydrolyse von Tetraethylorthosilicat (TEOS) auf die Calciumphosphat-Nanopartikel aufgebracht. Die Hydrolyse von TEOS wird typischerweise in Ethanol/Wasser-Gemischen bei basischen pH-Wert durchgeführt.^[101]

Diese Methode wurde zur Umhüllung der Fluorapatit-Kristallite mit einer dünnen Silicaschicht durchgeführt. Die EDX-Aufnahmen deuten auf die Anwesenheit einer dünnen Silicaschicht hin, denn in Bereichen mit intensiven Signalen an Sauerstoff, Calcium, Phosphor und Fluor (Fluorapatit) sind auch die Signale für Silicium (Silicaschicht) hoch (Abbildung 68).

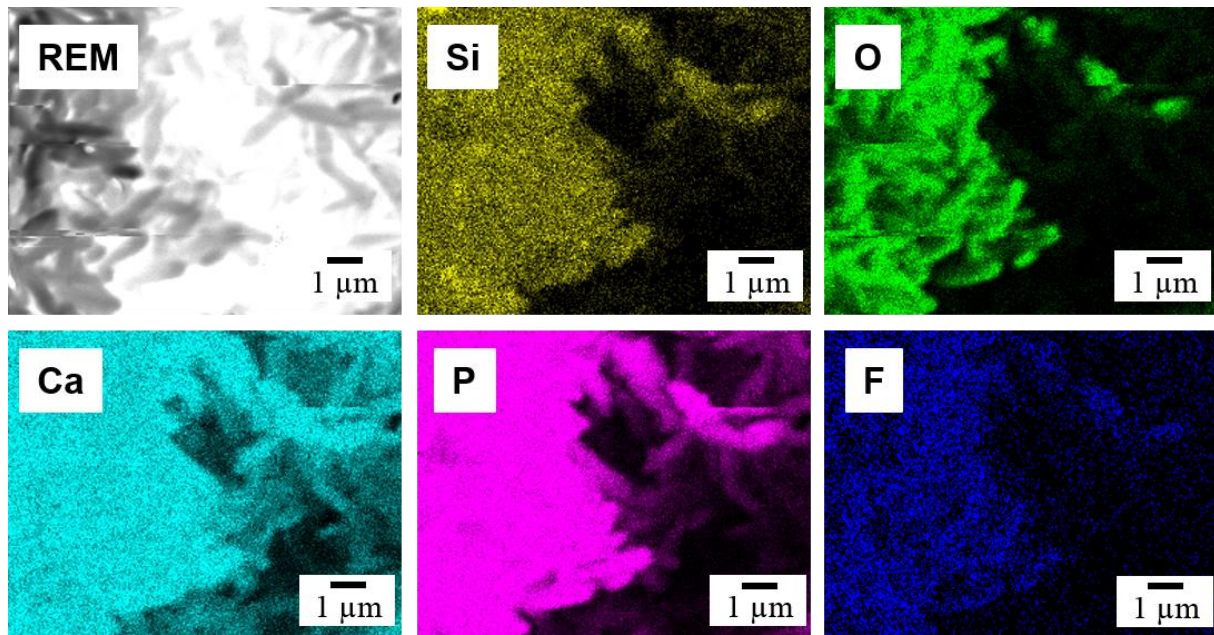


Abbildung 68: Qualitative EDX-Aufnahmen von Fluorapatit-Kristalliten nach dem Aufbringen einer Silicaschicht. In Bereichen mit hohem Anteil an Sauerstoff, Calcium, Phosphor und Fluor (Fluorapatit) ist auch viel Silicium (Silicaschicht) vorhanden. Indirekt lässt sich also schließen, dass die Oberfläche der Fluorapatit-Kristallite von einer Silicaschicht bedeckt ist.

Durch die durch den Stoeber-Prozess auf die Fluorapatit-Oberfläche aufgetragenen Silanolgruppen (Si-OH) ist es prinzipiell möglich, die Fluorapatit-Kristallite dadurch kovalent an die Polymermatrix zu binden. Hierfür eignet sich vor allem das Monomer MEMO (Kapitel 5.4.3), das durch die *in situ* gebildeten Silanolgruppen mit der Silicaschicht reagieren kann. Die Methacrylgruppen des MEMOs können dann in einer radikalischen Polymerisation kovalent mit der Polymerphase gebunden werden.

Nach der Umhüllung der Fluorapatit-Kristallite mit einer Silicaschicht (Abbildung 68) wurden diese in eine Polymermatrix eingebettet, die das Monomer MEMO enthielt. Es wurde eine Härte im Zentrum des Komposits von $0,40 \pm 0,05$ GPa und $0,11 \pm 0,03$ GPa im Außenbereich des Komposits erhalten. Dies entspricht in etwa den Werten, die für die anderen Komposite erhalten wurden (Tabelle 26). Auch die Mikrostruktur dieses Komposits ist vergleichbar

mit den oben vorgestellten Kompositen (Abbildung 69). Durch das Aufbringen einer Silicaschicht auf die Fluorapatit-Kristallite kann die Härte der Komposite somit nicht signifikant gesteigert werden.

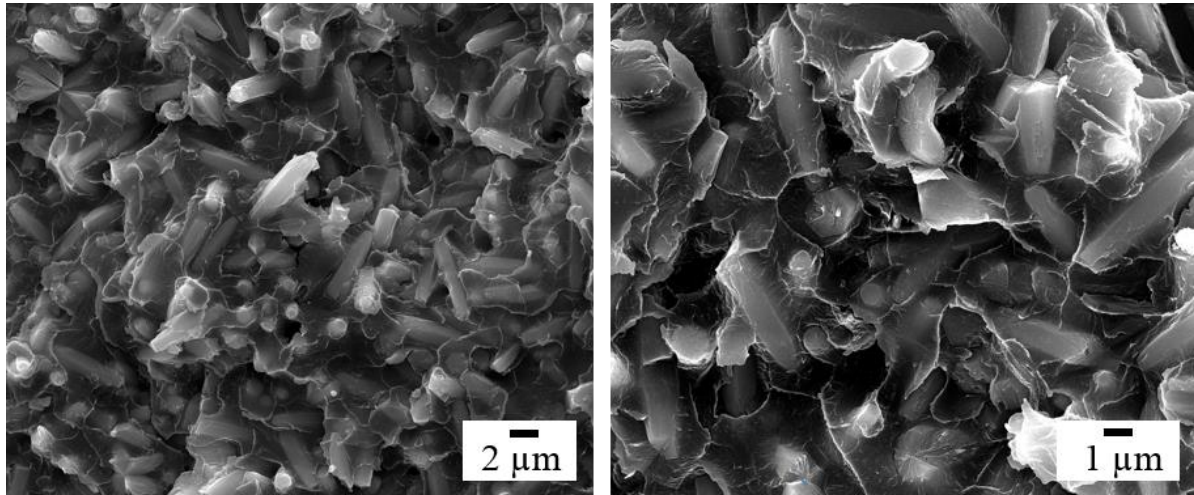


Abbildung 69: Rasterelektronenmikroskopische Untersuchungen an Bruchflächen des Komposits **19**. Die Fluorapatit-Kristallite wurden vor der Polymerisation mit einer Silicaschicht umhüllt (siehe Abbildung 68). Das Komposit wurde durch Ultrazentrifugation und anschließender thermisch initiiert Polymerisation dargestellt.

Zusammenfassend wurden Fluorapatit/Polymer-Komposite dargestellt, die einen Mineralanteil von ca. 60-70 Gew% haben und härter sind (0,3-0,4 GPa) als die entsprechende Polymermatrix alleine (0,2 GPa). Die Härte von Haifischzahn-Enameloid ist höher (3-4 GPa) als die der Komposite, da der Mineralanteil im Enameloid deutlich höher ist und die Kristallite wohlgeordnet hierarchisch innerhalb von Kristallitbündeln organisiert sind.

5.4.5 Korrosionsexperimente

Die chemische Beständigkeit des Zahnersatzes im Mundraum ist sehr wichtig, damit dessen Funktion über einen längeren Zeitraum gewährleistet ist.^[13]

In der Literatur wird der Angriff von Säuren auf den Zahnschmelz ohne das Einwirken von Bakterien als "Erosion" bezeichnet.^[7] Dabei können die Enamel-Kristallite partiell oder vollständig aufgelöst werden und es entstehen Ca^{2+} -Ionen und HPO_4^{2-} -Ionen (Abbildung 70).^[158]

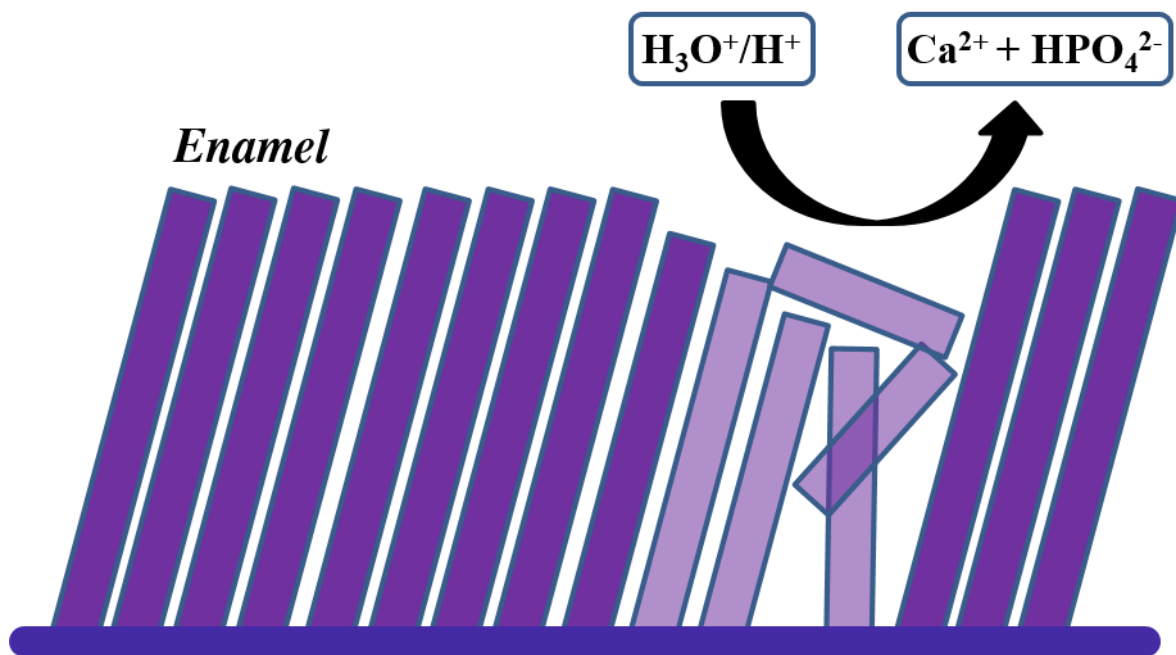


Abbildung 70: Schematische Darstellung des Angriffs von Säuren auf die Apatit-Kristallite des Enamels ("Erosion"). Durch einen sauren pH-Wert im Bereich von 1 bis 4 kommt es zu einer partiellen oder vollständigen Auflösung der Kristallite (Abbildung modifiziert nach Hannig und Hannig^[158]).

Um die Beständigkeit der Fluorapatit/Polymer-Komposite gegenüber Säuren zu analysieren, wurden Korrosionsexperimente an ausgewählten Kompositen durchgeführt. Basis dafür bildete die Publikation von Lippert *et al.*, die das Demineralisations- und Remineralisations-Verhalten von humanem Enamel mittels Rasterkraftmikroskopie und Nanoindentation untersuchten.^[8]

Mehrere Komposite (alle basierend auf Komposit 2) wurden einem sauren pH-Wert (pH 3; eingestellt mit Citronensäure) bei einer Temperatur von 37 °C

ausgesetzt, was in etwa natürlichen Bedingungen nach dem Genuss von säurehaltigen Nahrungsmitteln entspricht. Normalerweise hat der Speichel einen leicht sauren pH-Wert von ca. 5,5-6,0.^[79]

Für die Korrosionsexperimente wurden unterschiedliche Zeiten (2, 10, 30 und 60 min) gewählt und der Masseverlust der Komposite wurde bestimmt (Tabelle 31).

Tabelle 31: Übersicht über die Korrosionsexperimente an Fluorapatit/Polymer-Kompositen und der reinen Polymermatrix zum Vergleich (alle basierend auf Komposit 2) bei pH 3 (37 °C). Für jeden Zeitpunkt wurde eine einzelne Probe verwendet, um die Probenoberfläche anschließend mittels Rasterelektronenmikroskopie untersuchen zu können (siehe Abbildung 71). Die Blindprobe (BP) wurde für eine Stunde in destilliertem Wasser gelagert (d.h. ohne den Zusatz von Citronensäure). Angegeben sind jeweils die Massen vor und nach den Korrosionsexperimenten sowie die daraus resultierende Massedifferenz.

Zeit / min	pH- Wert	Fluorapatit/Polymer- Komposit			Reine Polymermatrix (ohne Zusatz von Fluorapatit)		
		m_{Beginn} / g	m_{Ende} / g	Δm / %	m_{Beginn} / g	m_{Ende} / g	Δm / %
2	3	0,7745	0,7751	+0,08	0,6898	0,6902	+0,06
10	3	0,7899	0,7897	-0,03	0,7917	0,7920	+0,04
30	3	0,8300	0,8300	$\pm 0,00$	0,7120	0,7133	+0,18
60	3	0,7625	0,7629	+0,03	0,7856	0,7856	$\pm 0,00$
60 (BP)	6	0,7709	0,7713	+0,05	0,7461	0,7469	+0,11

Die Korrosionsexperimente zeigen, dass es zu den genannten Zeiten keinen signifikanten Masseverlust gibt. Das bedeutet, dass die Fluorapatit/Polymer-Komposite und die Polymermatrix mindestens 60 min im sauren Milieu bei 37 °C

korrosionsbeständig sind. Im natürlichen Speichel liegt der pH-Wert nicht über längere Zeit im sauren Bereich. Das liegt daran, dass der Speichel in der Lage ist, einen sauren pH-Wert zu neutralisieren, da pro Tag ca. 1-2 L Speichel (hauptsächlich bestehend aus Wasser) gebildet werden.^[79]

Die hier vorgestellten Fluorapatit/Polymer-Komposite zeigen somit eine gute Korrosionsbeständigkeit im sauren Milieu. Dies liegt vor allem an der Polymermatrix, die auf PMMA basiert. PMMA ist beständig gegen Säuren und Basen.^[150] Fluorapatit ist wie alle Calciumphosphate säurelöslich,^[58] wobei die Säurelöslichkeit von Fluorapatit geringer ist als die von Hydroxylapatit.^[63]

Die Oberflächen der Komposite nach unterschiedlich langer Lagerung im sauren Milieu wurden mittels Rasterelektronenmikroskopie untersucht (Abbildung 71).

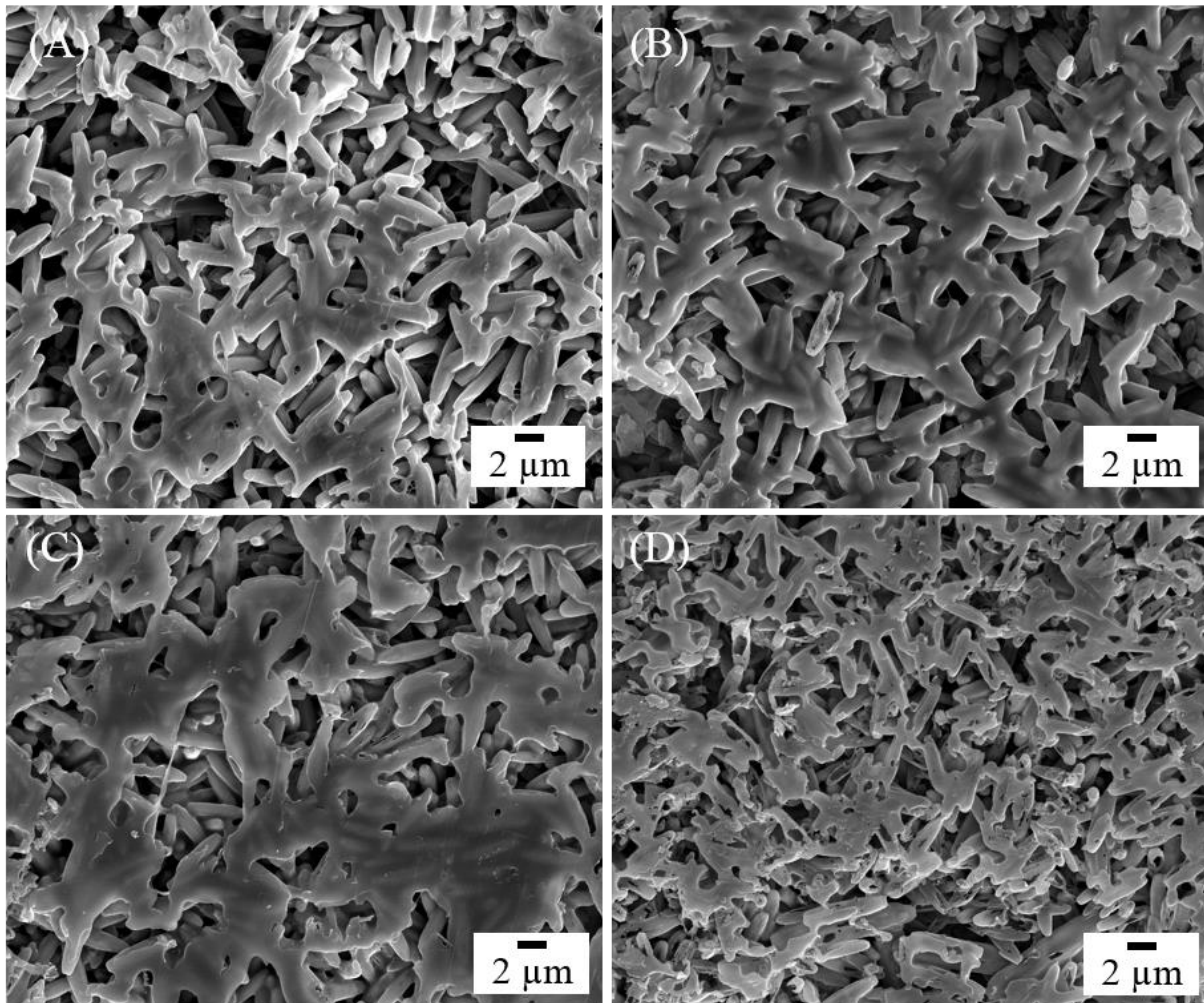


Abbildung 71: Rasterelektronenmikroskopische Aufnahmen von Fluorapatit/Polymer-Kompositen (alle basierend auf Komposit 2) nach (A) 2 min, (B) 10 min, (C) 30 min und (D) 60 min Eintauchen in eine saure Lösung (pH 3; 37 °C). Auf der Oberfläche der Komposite befindet sich eine (unregelmäßige) dünne Polymerschicht, die die Fluorapatit-Kristallite vor dem Säureangriff schützt. Nach 60 min lässt sich beobachten, dass die Fluorapatit-Kristallite ohne Polymerfilm durch die Citronensäure teilweise angegriffen wurden.

Die rasterelektronenmikroskopischen Aufnahmen zeigen, dass sich eine dünne Schicht Polymermatrix um das Komposit gebildet hat, die die Fluorapatit-Kristallite vor einem korrosiven Angriff schützt. Dieser Polymerfilm ist in einigen Bereichen deutlich dicker als in anderen Bereichen, wobei es auch Bereiche ohne sichtbaren Polymerfilm gibt. In Bereichen ohne äußeren Polymerfilm zeigt sich

besonders nach 60 min bei pH 3, dass die Fluorapatit-Kristallite angegriffen wurden (Abbildung 71D).

Zusammenfassend zeigen die rasterelektronenmikroskopischen Untersuchungen, dass die Oberfläche der Komposite weitestgehend intakt bleibt, was durch die Massekonstanz vor und nach den Korrosionsexperimenten bestätigt wurde (Tabelle 31).

Analog zu den synthetischen Fluorapatit/Polymer-Kompositen wurde die Zahnoberfläche (Enameloid) von *I. oxyrinchus* mit Citronensäure (pH 3; 37 °C) für 60 min behandelt (Abbildung 72, A,B), um die synthetischen Komposite mit dem biologischen Modell vergleichen zu können.

Der Masseverlust des gesamten Zahns lag bei 2,23 %, was deutlich höher ist als bei den synthetischen Kompositen (kein messbarer Masseverlust). Dieser hohe Masseverlust lässt sich auf den hohen Mineralanteil (Fluorapatitgehalt >95 Gew%) des Enameloids zurückführen (Kapitel 5.1.4), wobei Fluorapatit säurelöslich ist. Bei den Kompositen gibt es einen deutliche höheren Anteil an säurebeständiger Polymermatrix (ca. 30-40 Gew%), sodass der Masseverlust nicht signifikant ist.

Um das Korrosionsverhalten der Haifischzähne mittels Rasterelektronenmikroskopie zu untersuchen, wurde zusätzlich auch die Spitze eines weiteren Zahns von *I. oxyrinchus* in eine Lösung mit pH 2 (37 °C) getaucht (Abbildung 72 C,D).

Die rasterelektronenmikroskopischen Aufnahmen zeigen, dass das Enameloid durch die Citronensäure bei pH 2 und pH 3 stark angegriffen wird (Abbildung 72). Die umlaufenden Fluorapatit-Kristallitbündel werden sichtbar (siehe Strukturuntersuchungen in Kapitel 5.1.2). Durch das Einwirken von Citronensäure auf humanen Enamel können dessen Kristallitbündel ebenfalls freigelegt werden.^[7]

Zusätzlich gibt es beim Enameloid besonders bei pH 2 auch ungeordnete mineralische Bestandteile, die aus den Kristallitbündeln herausgelöst wurden. Der

shiny layer ist nicht sichtbar. Die Mikrostruktureinheiten des Enameloids werden durch das Einwirken der Citronensäure bei pH 2 deutlich stärker angegriffen als bei pH 3 (bei jeweils gleicher Einwirkzeit von 60 min).

Insgesamt bestätigen die rasterelektronenmikroskopischen Aufnahmen der angegriffenen Enameloid-Oberfläche den deutlichen Masseverlust von 2,23 % bei pH 3.

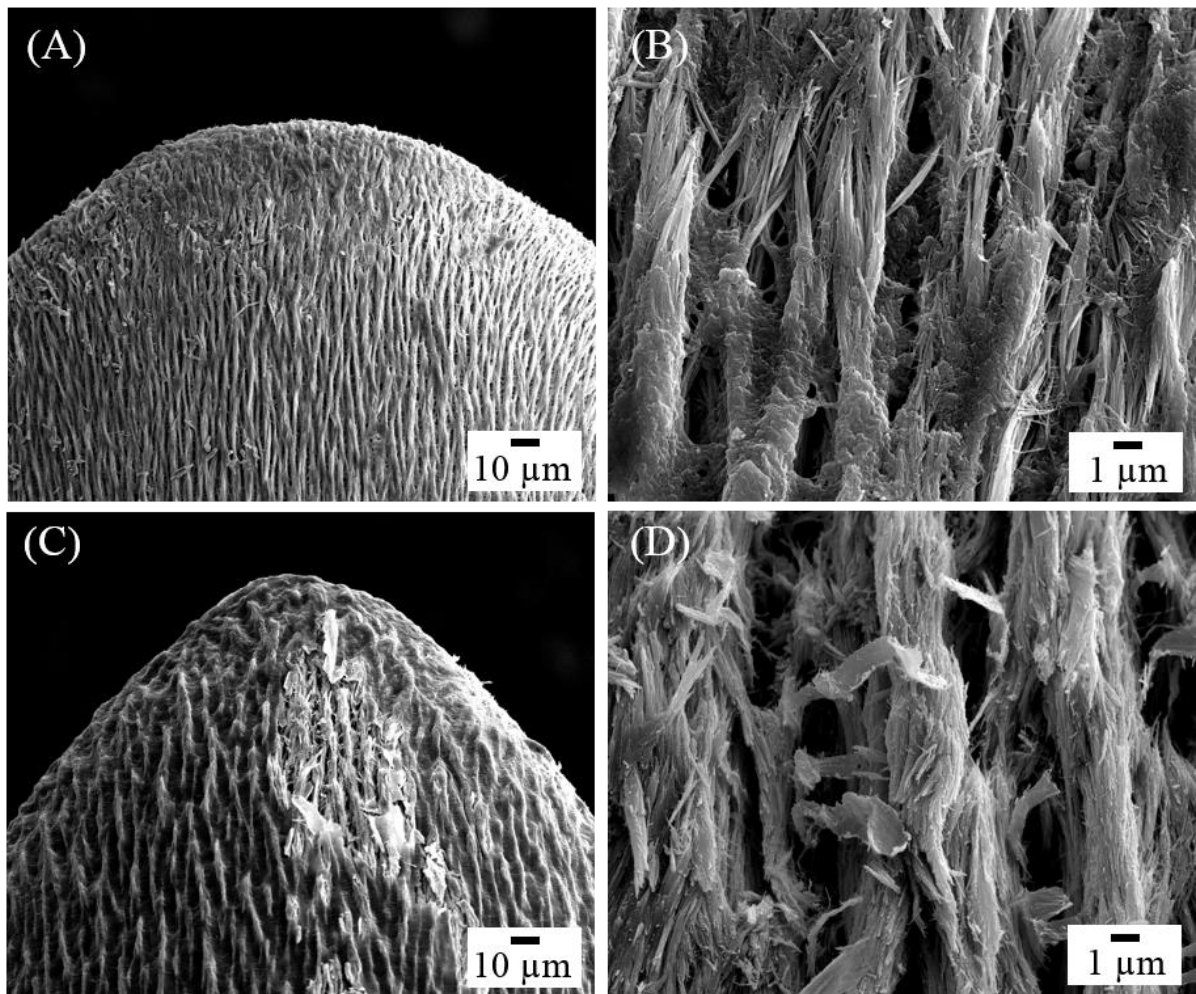


Abbildung 72: Rasterelektronenmikroskopische Aufnahmen der Enameloid-Oberfläche von Zähnen von *I. oxyrinchus* nach dem Anätzen mit Citronensäure: (A,B) Oberfläche nach 60 min Eintauchen in eine saure Lösung (pH 3; 37 °C), (C,D) Oberfläche nach 60 min Eintauchen in eine saure Lösung (pH 2; 37 °C). Die Kristallitbündel des Enameloids werden sichtbar, wobei der *shiny layer* nach dem Ätzvorgang nicht mehr sichtbar ist.

Das Verhalten von humanem Enamel *in vitro* in einer wässrigen Lösung aus Citronensäure wurde von Zheng *et al.* untersucht. Je länger die Oberfläche des Enamels der Säure ausgesetzt ist, desto höher ist der Grad der Demineralisierung. Zudem sinkt parallel dazu die Vickers-Mikrohärte der Enamel-Oberfläche.^[7]

LeGeros *et al.* untersuchten in einer vergleichenden Studie den Auflösungsgrad von humanem Enamel und Haifischzahn-Enameloid im sauren Medium. Sie zeigten, dass die Auflösung von humanem Enamel und synthetischen Fluorid-freien Apatiten größer ist als die von Haifischzähnen und synthetischen Fluorid-haltigen Apatiten. Die bessere Säurebeständigkeit der Haifischzähne im Vergleich zu humanen Zähnen führen LeGeros *et al.* auf die höhere Stabilität von Fluorapatit durch die Einlagerung von Fluoridionen in das Apatit-Gitter zurück.^[167]

In weiteren Experimenten könnte auch ein potentieller Remineralisierungsprozess von Fluorapatit/Polymer-Kompositen und von Haifischzahn-Enameloid mit künstlichem Speichel nach der Behandlung mit Säuren analysiert werden.^[8, 168]

5.4.6 Kapitelzusammenfassung: Synthetische Komposite

Durch die hydrothermale Synthese von Fluorapatit-Kristalliten in Anwesenheit unterschiedlicher anorganischer und organischer Additive konnten die Form und die Dimension der Kristallite variiert werden. Die Kristallite, die dem Vorbild Haifischzahn-Enameloid am ähnlichsten waren, wurden für die Darstellung von Fluorapatit/Polymer-Kompositen ausgewählt. Um die Kristallite innerhalb einer flüssigen Comonomermischung, basierend auf Methylmethacrylat (MMA), möglichst dicht zu packen, wurde das Komposit ultrazentrifugiert. Die radikalische Polymerisation der Monomere wurde durch den Zusatz von Dibenzoylperoxid induziert. Die dichteste Packung der Kristallite innerhalb der Komposite konnte durch eine Polymerisation während der Ultrazentrifugation bei Raumtemperatur in Anwesenheit tertiärer Amine erreicht werden. Hierbei wurde im Randbereich und im Zentrum der Komposite ein kompaktes Material erhalten, was zu vergleichbaren Härtewerten in beiden Bereichen führte. Zur Verbesserung der mechanischen Eigenschaften der Polymerphase wurden Vernetzer mit zwei oder drei polymerisierbaren Gruppen verwendet. Eine gute Wechselwirkung der Polymerphase mit dem Fluorapatit wurde durch den Zusatz von Methacrylat-Monomeren mit polaren Substituenten erreicht. Der Gehalt an freiem MMA innerhalb der Polymerphase betrug ca. 0,4 Gew%, was sehr gering ist, und zeigt, dass die Komposite biokompatibel sind. Korrosionsexperimente der Komposite in wässrigen Lösungen aus Citronensäure zeigten, dass die Komposite weitgehend säurestabil sind. Dies kann auf eine dünne Polymerschicht um das gesamte Komposit zurückgeführt werden, was mittels Rasterelektronenmikroskopie gezeigt wurde. Thermogravimetrische Analysen zeigten, dass der Mineralanteil in den Kompositen ca. 60-70 Gew% beträgt. Die Vickers-Mikrohärte ist in den Kompositen höher (0,3-0,4 GPa) als in der reinen Polymermatrix (0,2 GPa). Zur Verbesserung der Orientierung der Kristallite innerhalb der Komposite, wurde Fluorapatit auf Eisen-Substraten kristallisiert.

5.5 Darstellung und Charakterisierung von wässrigen Mattierungsdispersionen

5.5.1 Darstellung einer Mattierungsdispersion auf Basis von TiO_2

Mittels CAD/CAM können einem Patienten individuell angepasste Zahnersatzmaterialien direkt aus Keramikblöcken gefräst werden.^[16, 31]

Da Zähne selbst stark spiegeln, benötigt man für optimale Abbildungseigenschaften mit einer 3D-Kamera eine effektive Mattierung der Zahnoberflächen.

Dies kann durch das Aufbringen eines Materials auf die Zahnoberfläche erreicht werden, das einen hohen Brechungsindex und ein gutes Deckvermögen besitzt. Zudem muss es biokompatibel sein, da das finale Produkt im Mund angewendet werden soll.

Alle diese Anforderungen erfüllt Titandioxid, TiO_2 . Es kommt in drei kristallinen Modifikationen vor: Anatas, Brookit und Rutil. Aufgrund seiner hohen Deckkraft wird es u.a. als Weißpigment verwendet.^[57, 169-170] Dies lässt sich auf die hohen Brechungsindizes des TiO_2 s (Rutil: 2,80 und Anatas 2,55) zurückführen, die höher sind als bei anderen Weißpigmenten (Tabelle 32).^[57]

Tabelle 32: Brechungsindizes einiger Weißpigmente im Vergleich zu TiO_2 (Werte entnommen aus Holleman und Wiberg^[57]). TiO_2 hat verglichen mit anderen Weißpigmenten einen sehr hohen Brechungsindex.

Weißpigment	Brechungsindex
TiO_2 (Rutil)	2,80
TiO_2 (Anatas)	2,55
ZnS/Zinkit	2,37
ZnO/Baryt	2,01
BaSO_4	1,64

Industriell wird TiO_2 aus Ilmenit, FeTiO_3 , mithilfe des Sulfatverfahrens oder des Chloridverfahrens gewonnen.^[57]

TiO_2 ist biokompatibel und wird in zahlreichen Produkten eingesetzt, in denen es in direktem Kontakt mit der Haut steht, beispielsweise in Sonnencremes oder Zahnpasten.^[171-172]

Für diese Studie wurde ein Titandioxid in der Modifikation Anatas der Firma Kronos (*Kronos 1171*) ausgewählt, das als Lebensmittelfarbstoff E 171 zugelassen ist.^[173] Dieses Titandioxid wurde umfassend charakterisiert, um diese Daten später als Referenz zur Mattierungsdispersion nutzen zu können.

Kronos 1171 ist ein weißer, feinkörniger Feststoff. Rasterelektronenmikroskopische Aufnahmen zeigen, dass die verwendeten TiO_2 -Partikel eine kugelförmige Morphologie und eine einheitliche Größe von etwa 200-300 nm besitzen (Abbildung 73).

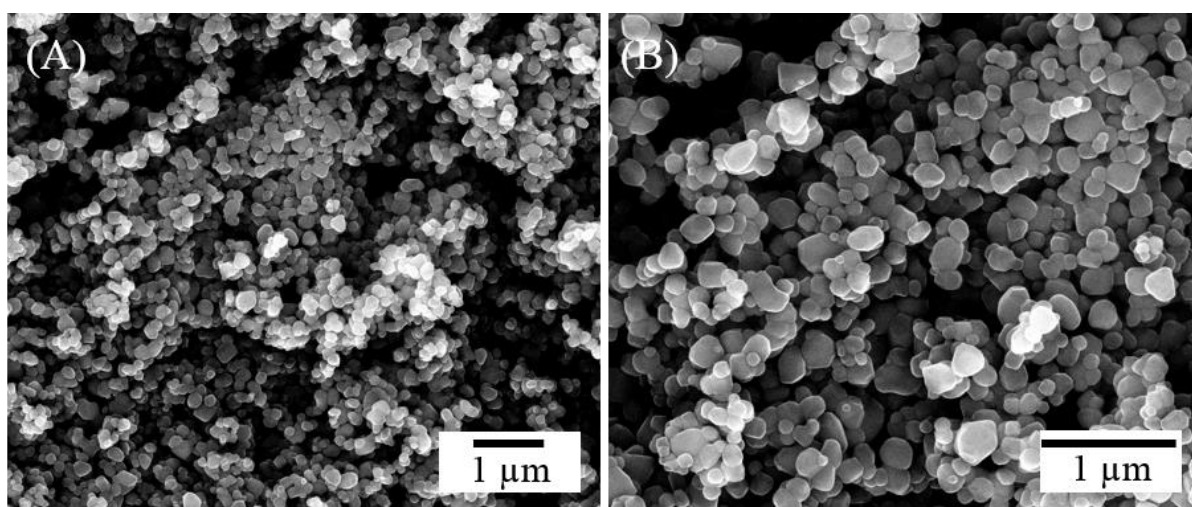


Abbildung 73: Rasterelektronenmikroskopische Aufnahmen von TiO_2 in der Modifikation Anatas der Firma Kronos (*Kronos 1171*) in zwei unterschiedlichen Vergrößerungen. Die TiO_2 -Partikel haben eine kugelförmige Morphologie und eine einheitliche Größe von ca. 200-300 nm.

Das Pulverdiffraktogramm der Probe bestätigt, dass es sich um phasenreines TiO_2 in der Modifikation Anatas handelt. Reflexe, die von einer möglichen

mineralischen Verunreinigung stammen könnten, sind nicht vorhanden (Abbildung 74).

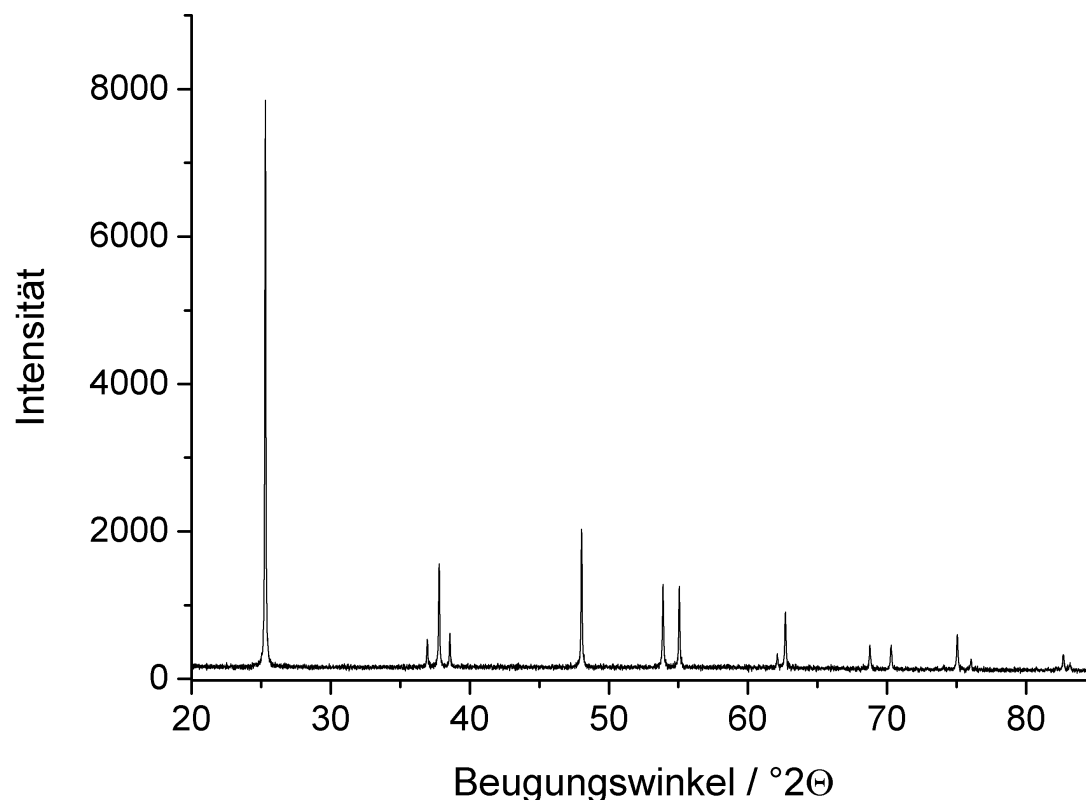


Abbildung 74: Das Pulverdiffraktogramm von *Kronos 1171* zeigt scharfe Beugungsreflexe, die alle dem TiO_2 in der Modifikation Anatas zugeordnet werden können.

Die mittels Rietveld-Analyse ermittelten Gitterparameter des *Kronos 1171* sind vergleichbar mit denen von TiO_2 -Anatas aus der Literatur (Tabelle 33).^[174]

Tabelle 33: Gitterparameter von *Kronos 1171* (TiO_2 -Anatas: Tetragonales Kristallsystem) im Vergleich zu Literaturwerten^[174] (jeweils gemessen bei Raumtemperatur). Die Werte der Gitterparameter sind vergleichbar.

	$a / \text{\AA}$	$c / \text{\AA}$
<i>Kronos 1171</i>	3,78552(3)	9,51482(9)
TiO_2 -Anatas (Horn <i>et al.</i> ^[174])	3,7842(13)	9,5146(15)

Auch ein energiedispersives Röntgenspektrum der Probe zeigt ausschließlich Signale für Titan und Sauerstoff (Abbildung 75).

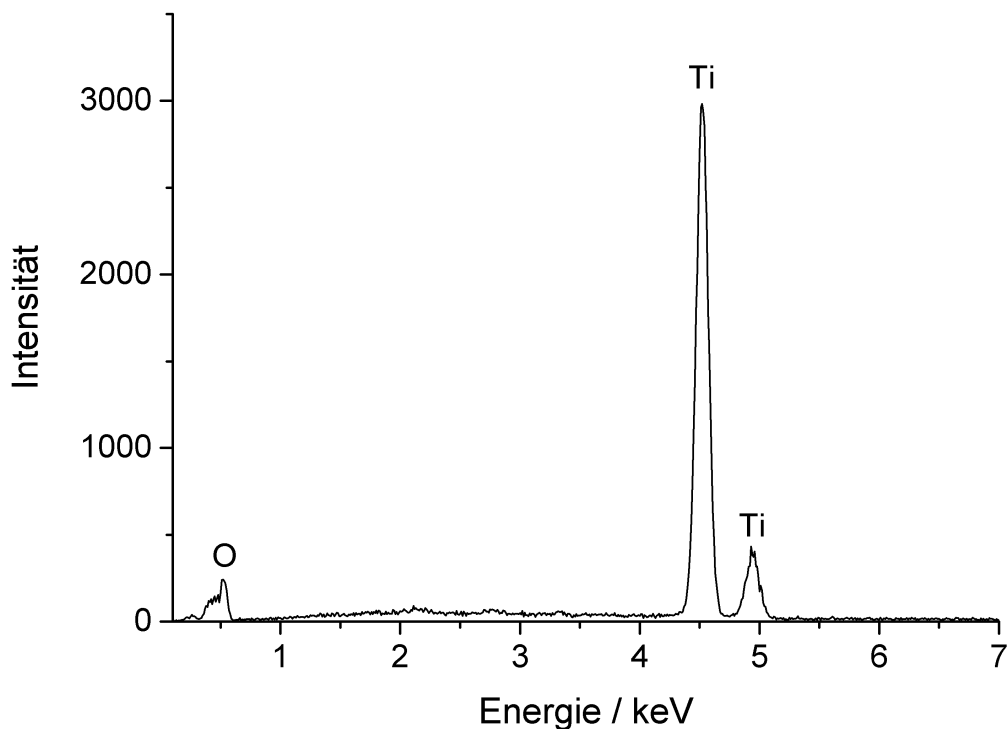


Abbildung 75: Ein energiedispersives Röntgenspektrum von *Kronos 1171* (TiO_2 -Anatas) zeigt deutliche Signale für Sauerstoff und Titan. Signale von möglichen Fremdsubstanzen bzw. Verunreinigungen sind nicht vorhanden.

Alle durchgeführten Analysen zeigen, dass es sich bei dem für diese Studie verwendeten *Kronos 1171* um phasenreines TiO_2 in der Modifikation Anatas handelt, das keine messbaren Additive oder Verunreinigungen enthält.

Damit die TiO_2 -Partikel an verschiedenen Oberflächen haften können, ist ein Zusatzstoff notwendig. Dies kann beispielsweise ein Klebstoff bzw. ein Polymer auf natürlicher oder synthetischer Basis sein.^[103, 175-178] Wichtig sind die Biokompatibilität und die Zulassung des Klebstoffs bzw. Polymers für die Anwendung im Mundraum sowie die Möglichkeit, mit diesem die TiO_2 -Partikel an verschiedenen Oberflächen zu adhären. Deshalb scheiden Klebstoffe mit toxischen Bestandteilen aus.

Für diese Studie wurden die folgenden natürlichen Polymere ausgewählt: Stärke, Gummi arabicum, Dextrin, Xanthan, Methylcellulose, Carboxymethylcellulose, Alginat, Zuckerrübensirup und die beiden synthetischen Polymere Polyvinylpyrrolidon und Polyvinylalkohol.

Gute Ergebnisse wurden mit Stärkekleister erzielt.^[179-180] Deshalb wurden viele Experimente mit Stärkekleister als Haftmittel durchgeführt.

Stärke ist in kaltem Wasser unlöslich. Um Stärke in einen Stärkekleister umzuwandeln, muss die Stärke in Wasser erhitzt werden.^[175, 179] Die Verkleisterungstemperatur für Stärke liegt bei ca. 50-70 °C, wobei die exakte Verkleisterungstemperatur von der Stammpflanze abhängig ist (Tabelle 34).^[179]

Tabelle 34: Durchmesser und Verkleisterungstemperaturen von Stärkekörnern unterschiedlicher Pflanzen (Werte entnommen aus BeMiller und Huber^[179]). Die exakten Verkleisterungstemperaturen sind von der Stammpflanze abhängig.

Quelle	Durchmesser / μm	Verkleisterungstemperatur / °C
Mais	15	62-71
Weizen	20-22	53-64
Reis	5	65-73
Kartoffel	33	62-68

Liu und Zhao untersuchten in einer rasterelektronenmikroskopischen Studie Körner aus Kartoffel- und Maisstärke in Wasser. Sie beobachteten, dass die Strukturen der Körner von der Temperatur abhängig sind. Die Körner quellen und bilden bei einer Temperatur von 80 °C schwammartige Netzwerke.^[180]

Dieses Verhalten wurde auch bei der für die Mattierungsdispersion verwendeten Kartoffelstärkekörnern beobachtet (Abbildung 76). Die Stärkekörner haben im unbehandelten Zustand eine rundliche Form, wobei größere Körner (Durchmesser ca. 20-50 μm) und kleinere Körner (Durchmesser ca. 10 μm) vorliegen

(Abbildung 76A). Dies liegt in etwa in dem Größenbereich, der für Kartoffelstärkekörner angegeben wird (Durchmesser ca. 33 μm ; Tabelle 34).^[179] Durch das Erhitzen auf 80 °C in Wasser verschmelzen die einzelnen Stärkekörner miteinander, und es bildet sich ein Stärkekleister (Abbildung 76B).

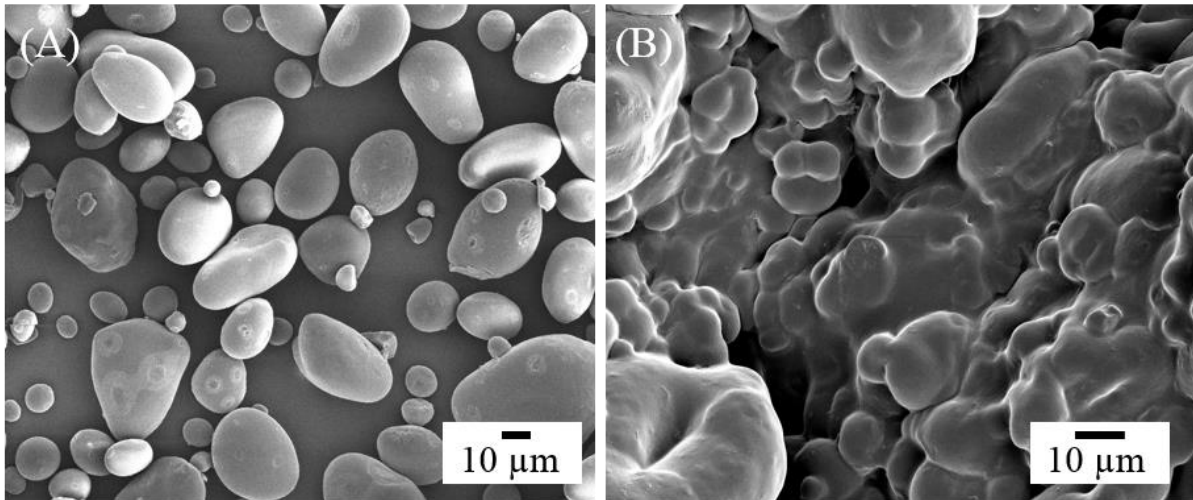


Abbildung 76: Rasterelektronenmikroskopische Aufnahmen der für diese Arbeit verwendeten Kartoffelstärke. (A) Unbehandelte Stärkekörner (ohne Wasserzusatz) bei Raumtemperatur und (B) nach 30 min Erhitzen bei gleichzeitigem Wasserüberschuss bei 80 °C. Die Stärkekörner verschmelzen nach dem Erhitzen und bilden netzwerkartige Strukturen (Stärkekleister).

5.5.2 Charakterisierung des Mattierungsfilms auf unterschiedlichen Materialoberflächen

Die ersten Tests zur Untersuchung der Haftwirkung verschiedener Kombinationen aus TiO_2 und Polymer wurden auf Glasoberflächen durchgeführt. Dazu wurden Glasplättchen in verschiedene Mattierungsdispersionen getaucht und an Luft oder mittels eines leichten Druckluftstroms getrocknet. Der resultierende Mattierungsfilm wurde analysiert. Der Vorteil bei der Verwendung von Glasplättchen liegt darin begründet, dass diese kostengünstig und einfach in der Handhabung sind. Waren die Adhäsionstests auf Glas erfolgreich, so wurde der Mattierungsfilm auf weiteren Materialoberflächen untersucht.

Fotos unterschiedlicher Mattierungsfilme auf Glasplättchen, mit Gold bedampften Glasplättchen, Glaspipetten und Kälberzähnen zeigen, dass eine dichte Bedeckung der Materialoberflächen erreicht wurde. Durch das Verblasen mittels Druckluft können aber auch Inhomogenitäten des Mattierungsfilms beobachtet werden (Abbildung 77).

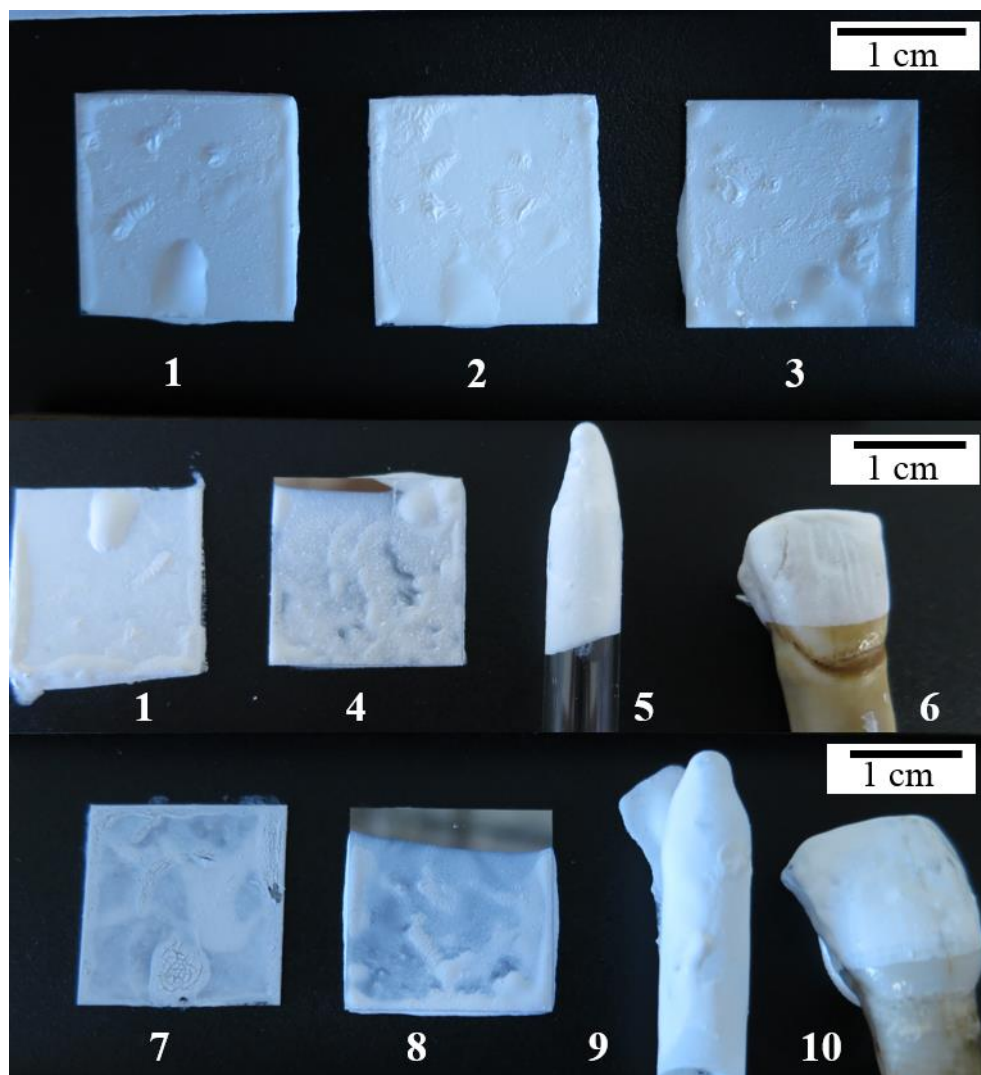


Abbildung 77: Fotos unterschiedlicher Mattierungsfilme auf verschiedenen Materialoberflächen. Auf Glasplättchen (1-3, 7), mit Gold bedampfte Glasplättchen (4, 8) Glaspipette (5, 9) und Kälberzähnen (6, 10) nach Eintauchen der Mattierungsdispersionen und Trocken mittels Druckluft. **1, 4-6:** 6,77 Gew% Stärke, 16,67 Gew% TiO_2 , 5,63 Gew% Glycerin; **2:** 7,00 Gew% Stärke, 17,24 Gew% TiO_2 5,83 Gew% Glycerin; **3** 7,25 Gew% Stärke, 18,52 Gew% TiO_2 6,04 Gew% Glycerin; **7-10:** 6,90 Gew% Stärke, 16,67 Gew% TiO_2 .

Der Mikrostruktur des Mattierungsauftrags wurde auf verschiedenen Materialien mittels Rasterelektronenmikroskopie untersucht. Dabei wurde besonders auf die Vollständigkeit der Bedeckung und die Qualität des Mattierungsfilms geachtet. Wichtig ist, dass die Mattierungsdispersion auf allen typischen dentalen Oberflächen haftet, die ganz unterschiedliche chemische Eigenschaften haben können (z.B. Polymethylmethacrylat, PMMA: geringe Polarität; Enamel: hohe Polarität). Wichtig für die Wechselwirkung des Haftmittels mit der Oberfläche sind vor allem dessen funktionelle Gruppen.

Neben Glas wurden Kälberzähne, mit Gold bedampfte Glasplättchen und PMMA verwendet. Darüber hinaus wurden komplexere Probenformen untersucht. Hierzu wurden Glaspipetten verwendet. Die verschiedenen Materialien wurden in Mattierungsdispersionen eingetaucht, getrocknet und mittels Rasterelektronenmikroskopie, Thermogravimetrie und energiedispersiver Röntgenspektroskopie analysiert.

Die Haftwirkung der Mattierungsdispersion auf Glasplättchen und auf Glaspipetten war gut. Die TiO_2 -Partikel hafteten mithilfe des Stärkekleisters an der Glasoberfläche. Die Oberfläche ist dicht mit TiO_2 -Partikeln bedeckt (Abbildung 78).

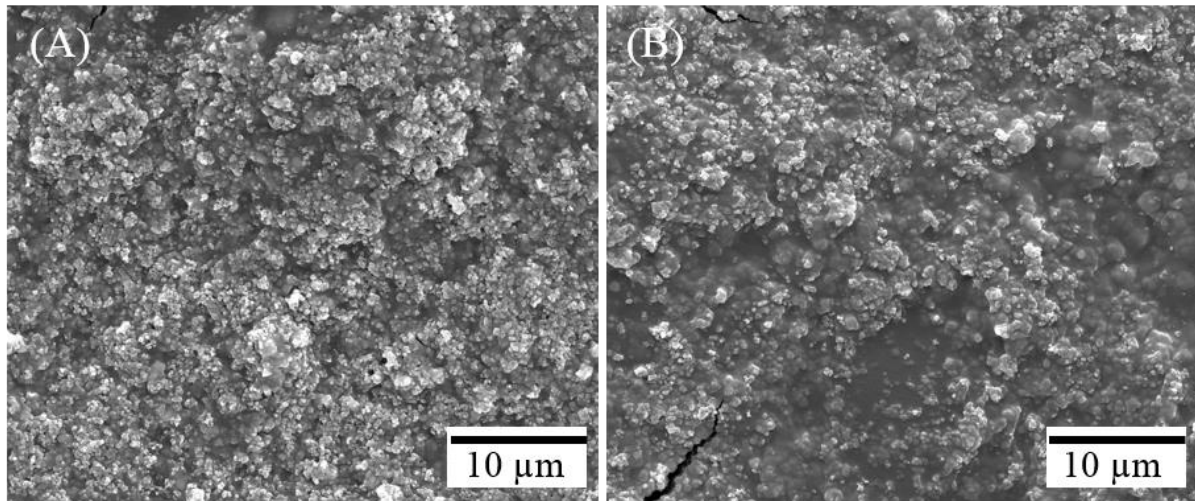


Abbildung 78: Rasterelektronenmikroskopische Aufnahmen von zwei Mattierungsdispersionen auf Glasplättchen bzw. Glaspipetten. Mattierungsdispersionen, bestehend aus (A) 8,28 Gew% Stärke, 20 Gew% TiO_2 , getrocknet auf einem Glasplättchen, und (B) 8,62 Gew% Stärke, 16,67 Gew% TiO_2 , getrocknet auf einer Glaspipette.

Auch auf mit Gold bedampften Oberflächen sind die Haftungseigenschaften ähnlich (Abbildung 79).

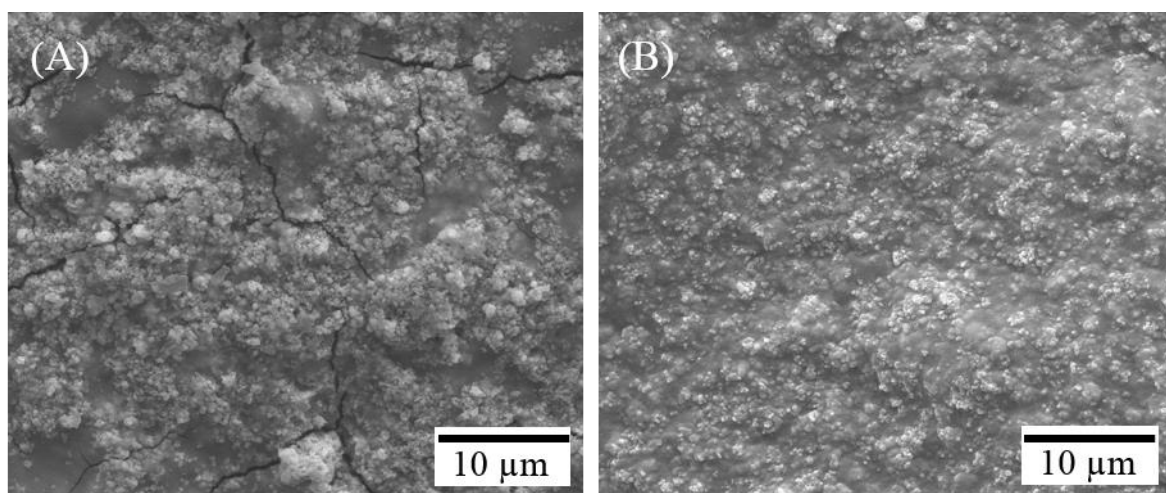


Abbildung 79: Rasterelektronenmikroskopische Aufnahmen von zwei Mattierungsdispersionen auf mit Gold bedampften Oberflächen. Mattierungsdispersionen, bestehend aus jeweils 8,62 Gew% Stärke und 16,67 Gew% TiO_2 , getrocknet (A) auf einem mit Gold bedampften Glasplättchen, und getrocknet (B) auf einer mit Gold bedampften Glaspipette.

Als Modellsystem für humane Zähne wurden Kälberzähne verwendet. Auch hier ist die Haftung des Mattierungsfilms gut, ebenso auf PMMA (Abbildung 80).

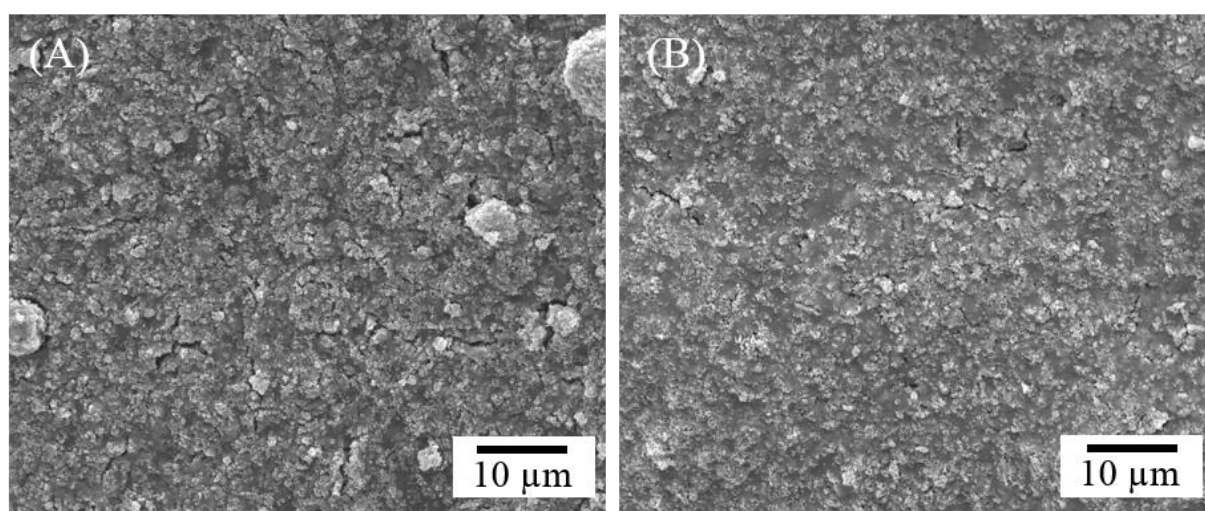


Abbildung 80: Rasterelektronenmikroskopische Aufnahmen einer Mattierungsdispersion (8,89 Gew% Stärke, 16,67 Gew% TiO_2 , 13,89 Gew% Glycerin) auf (A) der Oberfläche eines Kälberzahns und (B) auf PMMA.

Allerdings entstehen beim Trocknen und der anschließenden Probenvorbereitung Risse im Mattierungsfilm (Abbildung 79A). Trocknungsrisse sind bei den meisten Proben, bei denen Stärkekleister als Haftmittel zugesetzt wurde, zu beobachten. Trocknungsrisse im Mattierungsfilm konnten mit dem Feuchthaltemittel Glycerin etwas reduziert werden.

Problematisch war, dass die Viskosität der Mattierungsdispersionen nach längerem Lagern der Proben stark anstieg. Hier war der resultierende Mattierungsfilm sehr inhomogen. Deshalb wurden diese Proben nach längerer Lagerung mit Wasser verdünnt.

In ersten klinischen Tests konnten die Zähne und das Zahnfleisch mithilfe der Mattierungsdispersion effektiv mattiert werden und dadurch exakt abgebildet werden (Abbildung 81). Aufgrund der hohen Viskosität der Mattierungsdispersion wurde diese mit einem Pinsel auf die Zähne und das Zahnfleisch aufgetragen. Anschließend wurden die Zähne mittels Druckluft getrocknet und dann mit einer 3D-Kamera vermessen.

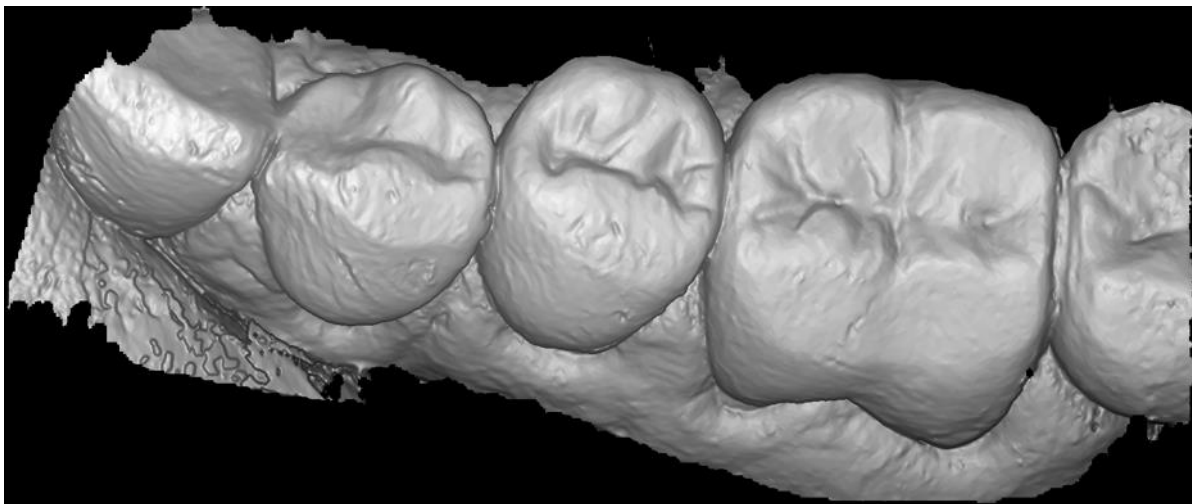


Abbildung 81: Digitaler Abdruck der Zähne einer Testperson, der mit einer 3D-Kamera (CEREC Blue-cam der Firma Sirona) erstellt wurde. Hierfür wurden die Zähne und das Zahnfleisch mit einer Mattierungsdispersion bestehend aus 9,13 Gew% Stärke und 16,67 Gew% TiO_2 eingepinselt und anschließend mittels Druckluft getrocknet. Die Zähne wurden mit einem Kofferdam vom übrigen Teil des Mundraums isoliert, um diese Stelle frei von Speichel zu halten.

Bei allen getesteten Oberflächen war die Haftwirkung der Mattierungsdispersion gut. Schwierig hingegen war die Haftung der Mattierungsdispersion auf PMMA. Dies könnte an der geringeren Polarität des PMMA im Vergleich zur Stärke liegen.

An einer exemplarischen Probe (mit 8,62 Gew% Stärke und 16,67 Gew% TiO_2) wurde eine thermogravimetrische Analyse durchgeführt (Abbildung 82). Hierbei wurde ein Glasplättchen in die Dispersion eingetaucht und der Mattierungsfilm bei Raumtemperatur getrocknet. Der Film wurde dann gesammelt und mittels Thermogravimetrie untersucht. Im resultierenden Thermogramm können vorwiegend zwei Temperaturbereiche des Masseverlustes unterschieden werden. Im Temperaturbereich bis 200 °C wird Wasser freigesetzt und im Bereich von 200-500 °C gibt es einen Abbrand der organischen Bestandteile (Stärke). Nach dem Trocknen des Mattierungsfilms auf Glas bei Raumtemperatur ist der Wassergehalt erwartungsgemäß sehr gering (1,6 Gew%). Der organische Anteil, also der Anteil an Stärke, liegt bei 31,5 Gew%. Der Anteil an TiO_2 beträgt dann 66,9 Gew%. Der Anteil an Stärke und TiO_2 im getrockneten Mattierungsfilm ist aufgrund des geringeren Wasseranteils nach dem Trocknen deutlich höher als in der Ausgangsdispersion.

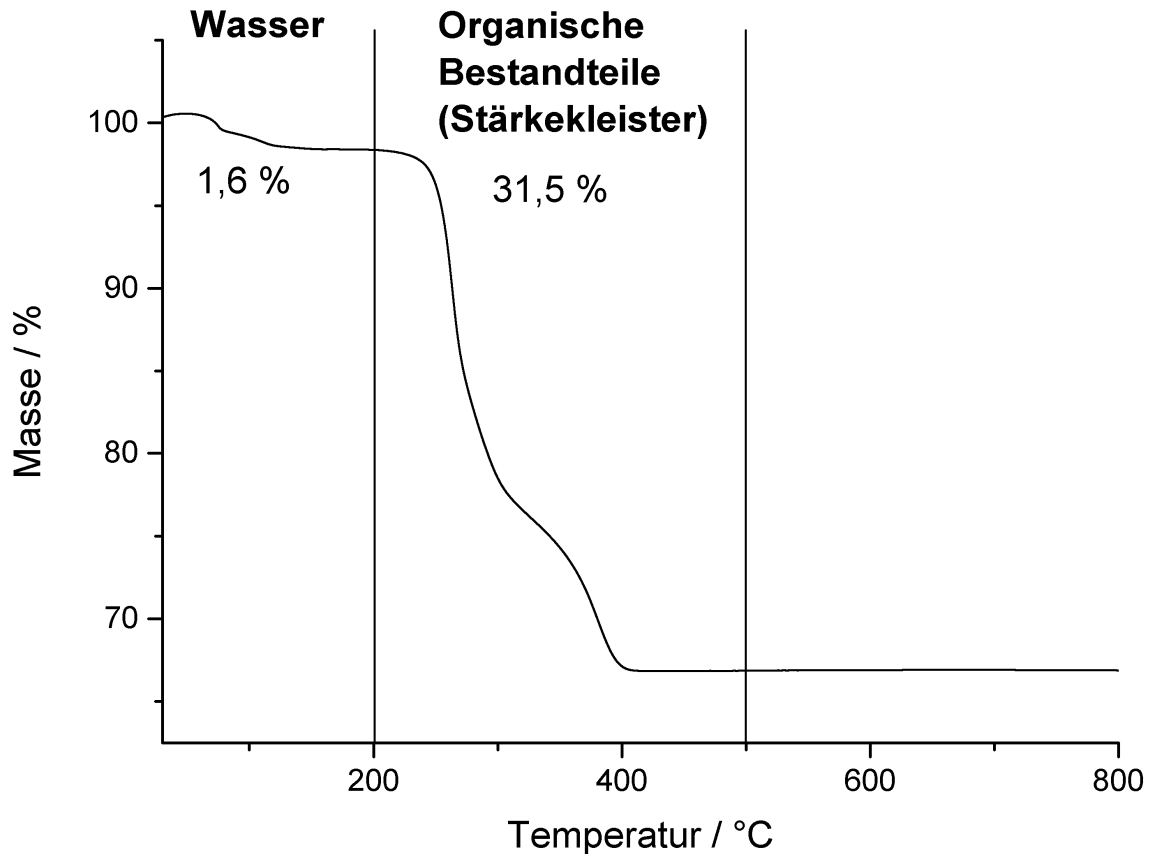


Abbildung 82: Thermogravimetrische Messkurve eines bei Raumtemperatur auf Glas getrockneten Mattierungsfilms aus TiO_2 und Stärkekleister (16,67 Gew% TiO_2 , 8,62 Gew% Stärke). Zwei Hauptbereiche des Masseverlusts können identifiziert werden: Der Verlust von Wasser ($< 200\text{ °C}$) und der Abbrand des Stärkekleisters (200-500 °C).

Der Mattierungsfilm der Stärkekleister/ TiO_2 -Dispersionen wurde chemisch mittels energiedispersiver Röntgenspektroskopie analysiert (Abbildung 83). Hierbei gibt es Signale für TiO_2 und Stärke (Kohlenstoff und Sauerstoff), wobei die höchsten Intensitäten dem TiO_2 zuzuordnen sind.

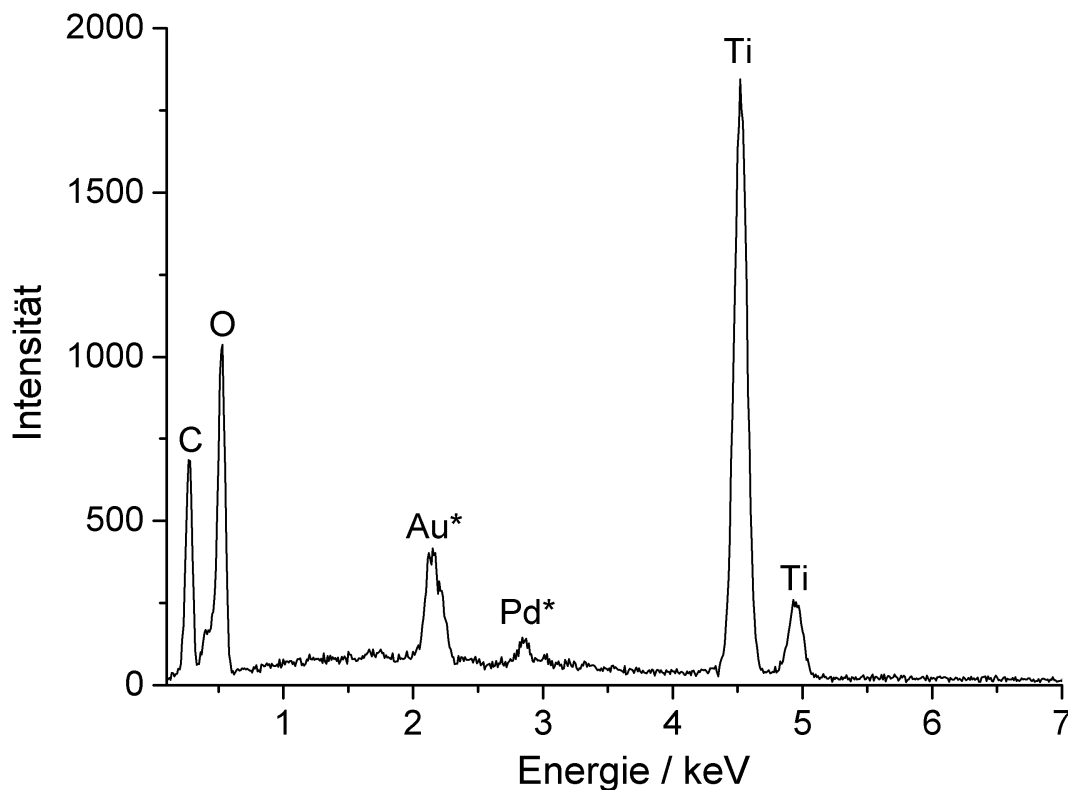


Abbildung 83: Energiedispersives Röntgenspektrum eines Mattierungsfilms, bestehend aus 8,62 Gew% Stärke und 16,67 Gew% TiO_2 , der auf Glas mittels Druckluft getrocknet wurde. Die Signale für Gold und Palladium, gekennzeichnet mit einem Sternchen (*), stammen nicht von der Probe selbst, sondern von der Bedampfung der Probe.

Abspülversuche verschiedener Mattierungsfilme auf Glas zeigten, dass der Mattierungsfilm beständig gegenüber Druckluft ist. Mit Wasser aus einer Spritzflasche konnte der Mattierungsfilm praktisch vollständig entfernt werden. Letzte Reste, die bei einigen Proben noch vorhanden waren, konnten mit einem Pinsel problemlos entfernt werden.

Als alternatives Haftmittel, um die TiO_2 -Partikel auf verschiedene Materialoberflächen zu adhären, wurde Polyvinylpyrrolidon (PVP) getestet. PVP ist ein ungiftiges Polymer, das gute filmbildende Eigenschaften besitzt und

ein gutes Adhäsionsverhalten an unterschiedlichen Substraten hat.^[79] PVP ist gut wasserlöslich und besitzt je Monomereinheit einen Lactam-Ring (Abbildung 84).

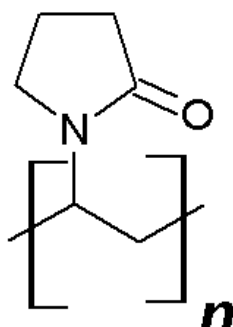


Abbildung 84: Strukturformel von Polyvinylpyrrolidon (PVP), das je Monomereinheit einen Lactam-Ring besitzt.

PVP kann durch eine radikalische Polymerisation aus dem Monomer 1-Vinylpyrrolidin-2-on hergestellt werden.^[79] Vorteilhaft im Vergleich zur Stärke ist, dass PVP ein synthetisch hergestelltes Polymer ist, wodurch es gleichbleibende Eigenschaften hat. Stärke ist hingegen ein natürliches Biopolymer und unterliegt in seiner exakten Zusammensetzung biologischen Schwankungen.

PVP hat einen polaren Lactam-Ring. Deshalb sollte die Wechselwirkung mit dem Hydroxylapatit des Dentins und Enamels gut sein.

Die rasterelektronenmikroskopischen Aufnahmen auf Glasplättchen zeigen, dass wie beim Stärkekleister ein deckender Mattierungsfilm entsteht (Abbildung 85).

Der Polymeranteil im Mattierungsfilm ist aber höher als der bei der auf Stärkekleister basierenden Mattierungsdispersion.

Rasterelektronenmikroskopische Aufnahmen zeigen, dass ein dichter Polymerfilm über den TiO₂-Partikeln liegt (Abbildung 85).

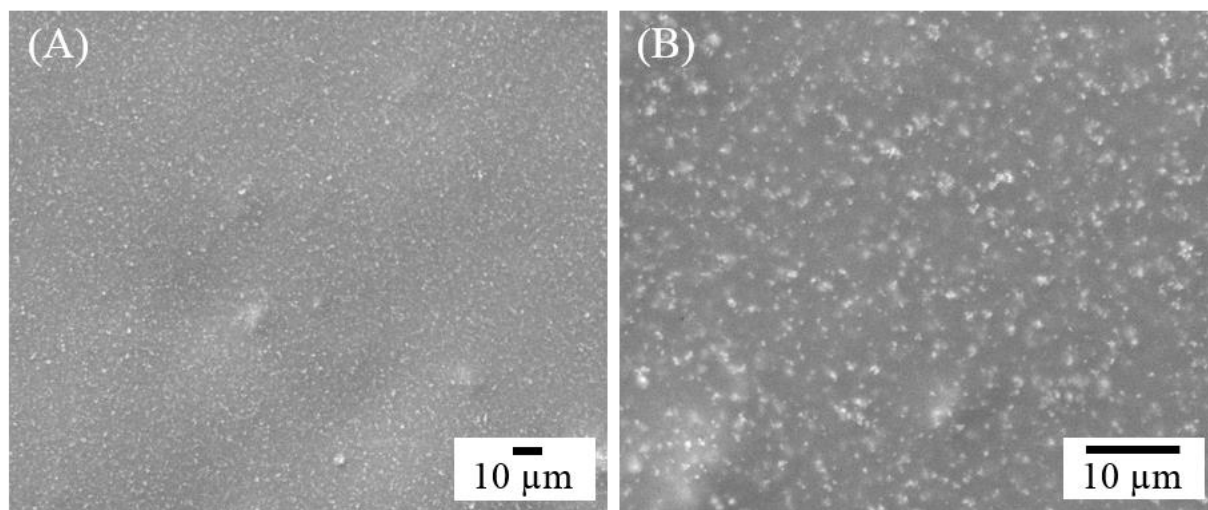


Abbildung 85: Rasterelektronenmikroskopische Aufnahmen von PVP-haltigen Mattierungsdispersionen auf Glasplättchen (10,41 Gew% TiO_2 und 37,50 Gew% PVP): (A) Übersicht und (B) vergrößerte Ansicht. Der Polymeranteil des Mattierungsfilms ist hoch, und die TiO_2 -Partikel scheinen diffus durch den Mattierungsfilm.

Um die Qualität des Mattierungsfilms weiter zu verbessern, wurde Ethanol (10 und 20 Gew%) zugesetzt. Ethanol hat im Weiteren den Vorteil, dass es Keime töten kann. Es wird deshalb auch als Konservierungsmittel verwendet.^[79]

Durch den Ethanol-Zusatz trocknet der Mattierungsfilm schneller und der Mattierungsfilm sieht optisch homogener aus als eine Mattierungsdispersion ohne Ethanol-Zusatz. Der Mattierungsfilm zeigt eine homogene Bedeckung der Glasoberfläche, wobei der Polymeranteil weiterhin hoch ist (Abbildung 86).

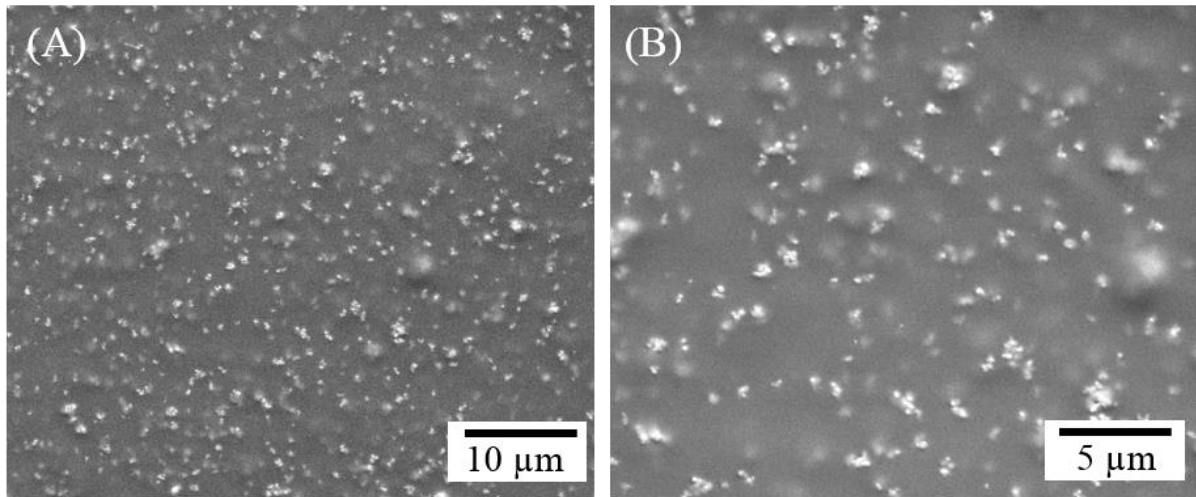


Abbildung 86: Rasterelektronenmikroskopische Aufnahmen von PVP-haltigen Mattierungsdispersionen mit Ethanol-Zusatz auf einer Glaspipette in unterschiedlichen Vergrößerungen. 10,41 Gew% TiO_2 , 37,50 Gew% PVP, 10,41 Gew% Ethanol.

Auch auf mit Gold bedampften Glaspipetten zeigt sich ein Mattierungsfilm mit hohem Polymeranteil, wobei die TiO_2 -Partikel nur diffus zu erkennen sind (Abbildung 87).

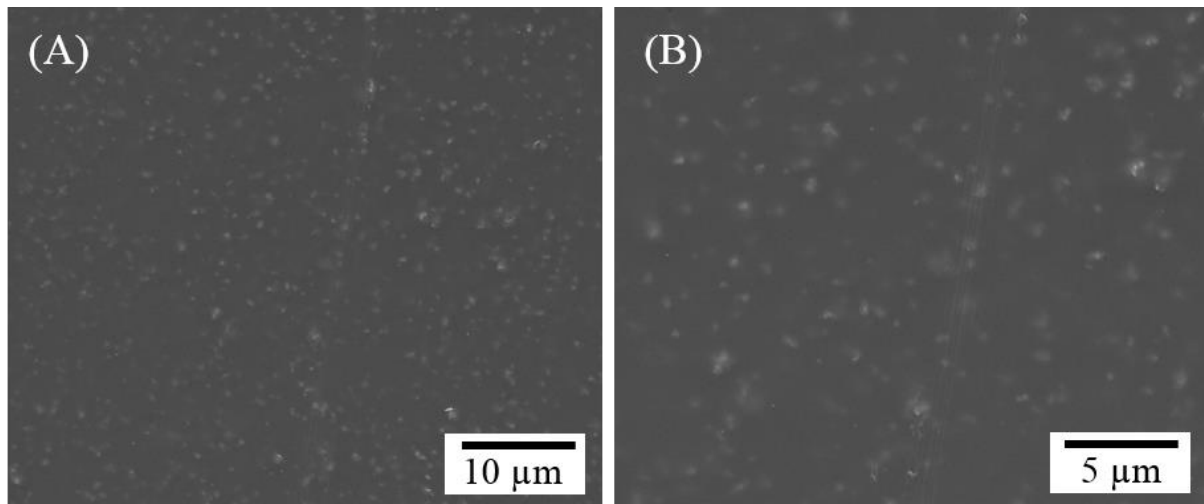


Abbildung 87: Rasterelektronenmikroskopische Aufnahmen von PVP haltigen Mattierungsdispersionen mit Ethanol-Zusatz auf einer mit Gold bedampften Glaspipette in unterschiedlichen Vergrößerungen. 10,41 Gew% TiO_2 , 37,50 Gew% PVP, 10,41 Gew% Ethanol. Die Polymerschicht ist so dick, dass man die TiO_2 -Partikel nur diffus erkennen kann.

Der PVP basierte Mattierungsfilm wurde auch auf Kälberzähnen und PMMA getestet. Hier war der Polymerfilm allerdings so dicht, dass mittels Rasterelektronenmikroskopie unter diesem keine TiO_2 -Partikel beobachtet werden konnten, obwohl der weiße Mattierungsfilm mit dem Auge deutlich sichtbar war.

Wie bei der Verwendung von Stärkekleister als Haftmittel, wurde auch ein Mattierungsfilm mit PVP als Haftmittel mittels Thermogravimetrie analysiert (Abbildung 88).

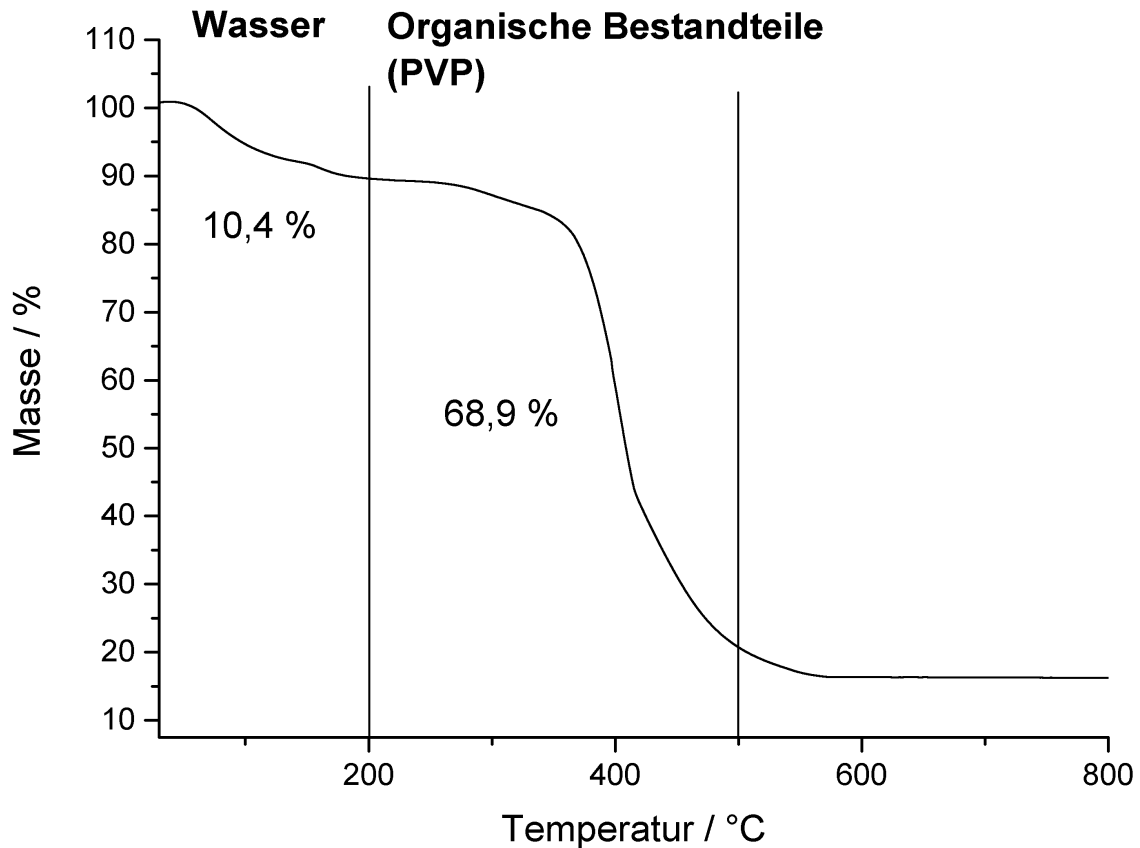


Abbildung 88: Thermogravimetrische Messkurve eines bei Raumtemperatur auf Glas getrockneten Mattierungsfilms aus TiO_2 , PVP und Ethanol (10,41 Gew% TiO_2 , 37,50 Gew% PVP, 10,41 Gew% Ethanol).

Der Wassergehalt des bei Raumtemperatur getrockneten Mattierungsfilms beträgt 10,4 Gew%, wobei der Wasseranteil des Mattierungsfilms in der Praxis abhängig von der Trocknung, d.h. Dauer und Intensivität des Druckluftstroms, im Mundraum ist. Aufgrund des geringeren Wassergehalts, verglichen mit der Ausgangsdispersion, beträgt der PVP-Gehalt im Mattierungsfilm 68,9 Gew% (37,5 Gew% in der Ausgangsdispersion). Der organische Anteil ist hierbei also sehr hoch. Dies wird auch bei den rasterelektronenmikroskopischen Aufnahmen deutlich, die einen dichten Polymerfilm auf unterschiedlichen Materialien zeigen, wobei die TiO_2 -Partikel nur diffus zu erkennen sind (Abbildungen 85-87).

Der Mattierungsauftrag der Dispersion aus TiO_2 und PVP zeigt im energiedispersiven Röntgenspektrum Signale für TiO_2 und PVP (Abbildung 89).

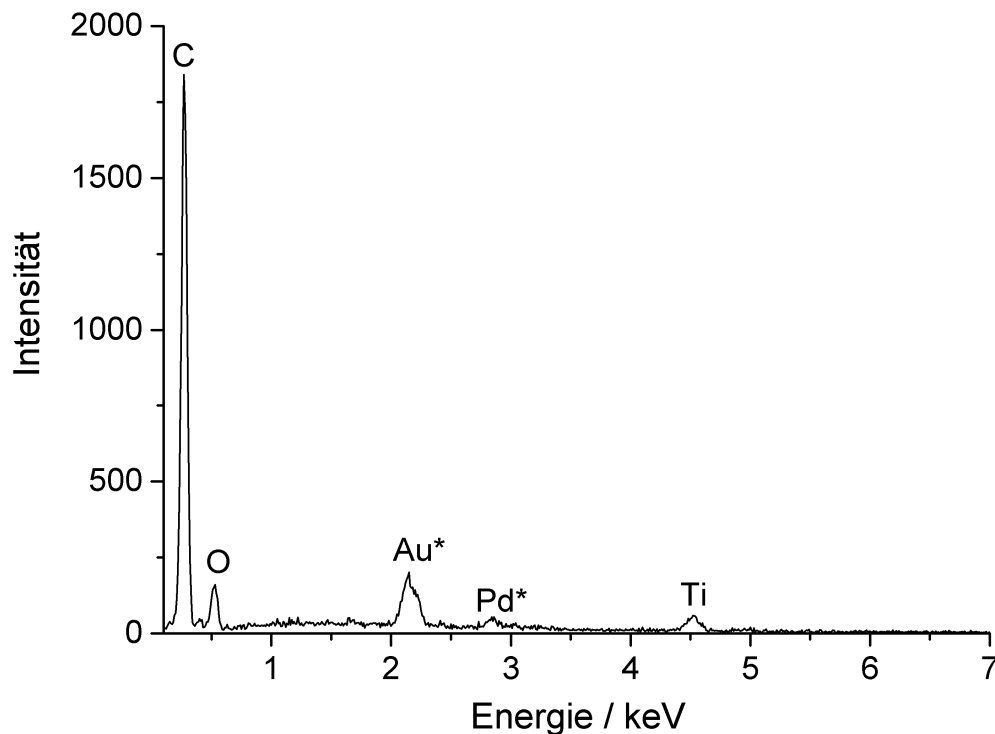


Abbildung 89: Energiedispersives Röntgenspektrum eines Mattierungsfilms bestehend aus 10,41 Gew% TiO_2 , 37,50 Gew% PVP, 10,41 Gew% Ethanol, der auf Glas mittels Druckluft getrocknet wurde. Der Anteil an TiO_2 ist in diesem Mattierungsfilm sehr gering, was auf den hohen Polymeranteil zurückzuführen ist. Die Signale für Gold und Palladium, gekennzeichnet mit einem Sternchen (*), stammen nicht von der Probe selbst, sondern von der Bedampfung der Probe.

Die Ergebnisse der Untersuchung des Mattierungsfilms mittels Rasterelektronenmikroskopie und Thermogravimetrie bestätigen die Ergebnisse der energiedispersiven Röntgenspektroskopie. Im energiedispersiven Röntgenspektrum gibt es intensive Signale für Kohlenstoff (PVP), aber nur Signale mit geringer Intensität für Titan (TiO_2). Dies lässt sich auf den hohen Polymeranteil des Mattierungsfilms zurückführen.

Vorteilhaft bei PVP im Vergleich zur Stärke ist, dass die PVP-haltige Dispersionen länger lagerstabil sind als die mit Stärke. Mattierungsdispersionen auf Stärkekleister-Basis bilden innerhalb weniger Tage Klumpen und müssen durch die Verdünnung mit Wasser wieder fließfähig gemacht werden. PVP-

haltige Dispersionen sind hingegen über einen längeren Zeitraum fließfähig. Zudem ist Stärke anfälliger für einen mikrobiellen Befall als PVP, da Stärke eine Nahrungsquelle vieler Organismen ist.^[79]

5.5.3 Konservierung der Mattierungsdispersionen und biologische Tests

Um den Stärkekleister vor einem mikrobiellen Befall zu schützen und somit das Produkt langfristig verwendbar zu machen, muss ein Konservierungsmittel zugesetzt werden. Konservierungsmittel müssen gezielt für die spezifische Anwendung ausgewählt werden, da sie beispielsweise unterschiedliche Wasserlöslichkeiten, Stabilitäten und Wirkspektren haben. Auch der pH-Wert hat einen wesentlichen Einfluss auf die Wirkung von Konservierungsmitteln (Tabelle 35).^[181]

Tabelle 35: Beispiele einiger Konservierungsmittel mit dem für die Wirkungsweise optimalen pH-Wert und der Wasserlöslichkeit (Werte entnommen aus Schmidt und Franck^[181]).

Konservierungsmittel	pH-Bereich mit optimaler Wirkung	Wasserlöslichkeit / %
Benzylalkohol	< 5	4,0
Sorbinsäure	3-6	0,16
Methylparaben	4-8	0,25
Benzalkoniumchlorid	4-10	mischbar
Chlorhexidin	5-8	> 70

Je nach Konservierungsmittel gibt es verschiedene Angriffspunkte auf Bakterien, z.B. unterschiedliche Proteine (Abbildung 90).^[181]

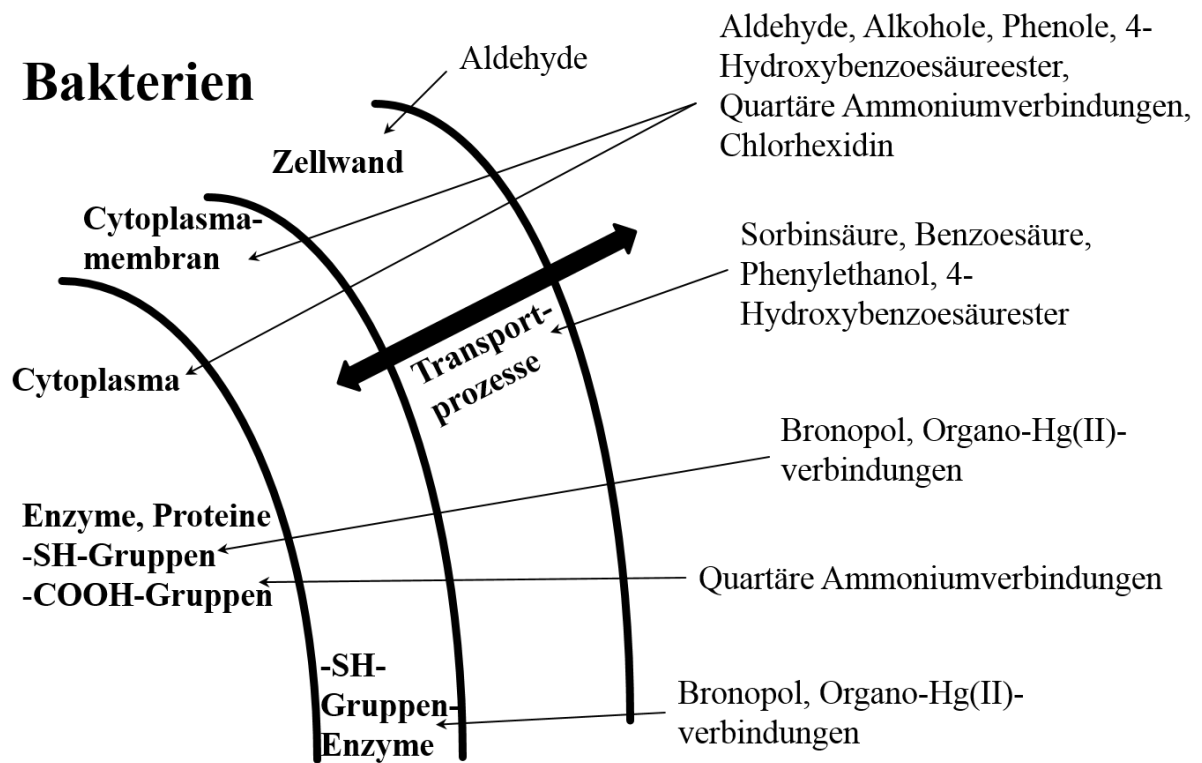


Abbildung 90: Auswahl unterschiedlicher Konservierungsmittel und ihre jeweiligen Angriffspunkte auf Bakterien (Schema modifiziert nach Schmidt und Franck^[181]).

Zur Konservierung des Stärkekleisters wurden unterschiedliche Moleküle getestet, die konservierende Eigenschaften aufweisen (Abbildung 91).^[181-182]

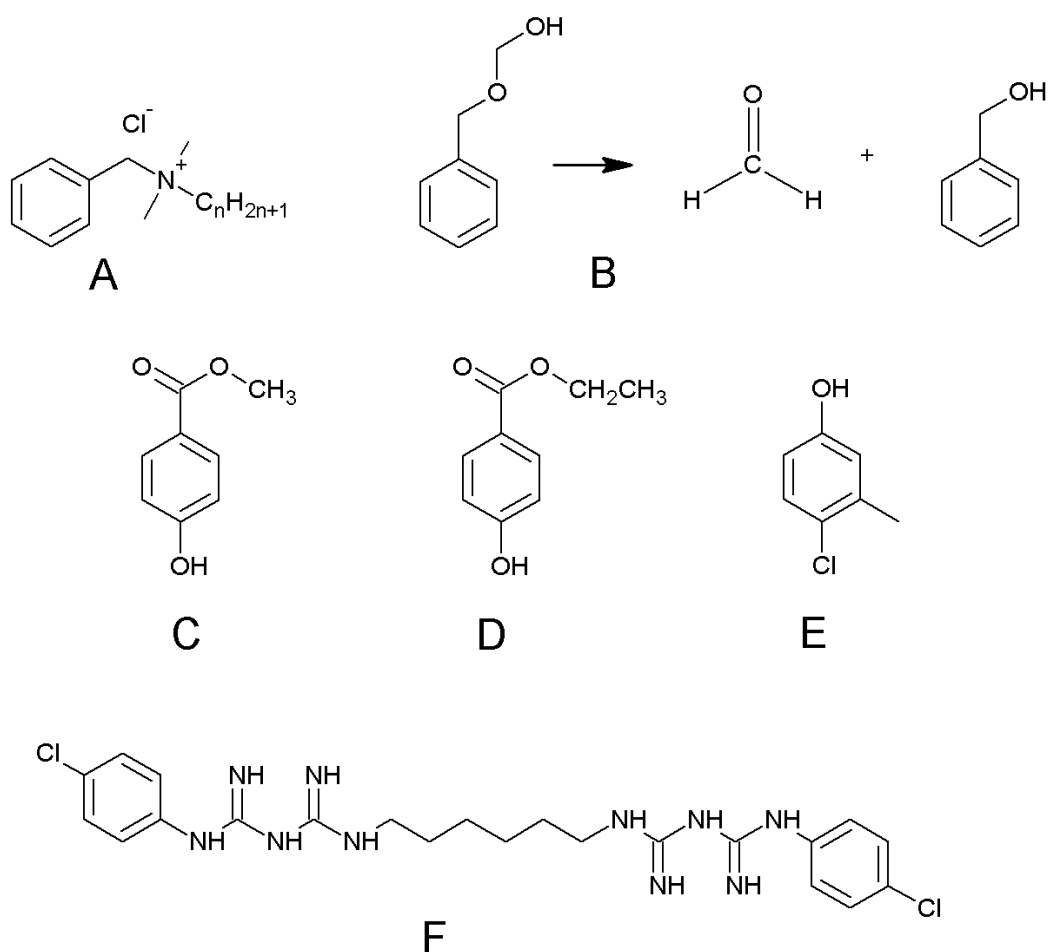


Abbildung 91: Strukturen der verwendeten Konservierungsmittel: (A) Die quartäre Ammoniumverbindung Benzalkoniumchlorid, (B) der Formaldehydabspalter Benzyloxymethanol (Preventol D2; Lanxess), (C) Methylparaben (4-Hydroxybenzoesäuremethylester), (D) Ethylparaben (4-Hydroxybenzoesäureethylester), (E) 3-Methyl-4-Chlorphenol (Preventol CMK PG; Lanxess) und (F) Chlorhexidin (1,1'-Hexamethylenbis[5-(4-chlorphenyl)biguanid]).

Mit Benzalkoniumchlorid wurde eine quartäre Ammoniumverbindung getestet (Abbildung 91A). Diese kann mit der Carboxylgruppe von Proteinen wechselwirken. Benzalkoniumchlorid wird beispielsweise in Augentropfen verwendet.^[181] Bei dessen Verwendung schäumte die Mattierungsdispersion aber sehr stark, und die TiO_2 -Partikel waren nicht mehr homogen dispergiert. Deshalb

eignete sich Benzalkoniumchlorid nicht als Konservierungsmittel für eine Mattierungsdispersion basierend auf TiO_2 .

Überdies wurde das Benzyloxymethanol, das leicht das konservierend-wirkende Formaldehyd abspalten kann, getestet (Abbildung 91B). Die Abspaltung wird bei einem sauren pH-Wert begünstigt, und es bildet sich neben Formaldehyd auch Benzylalkohol, das ebenfalls eine konservierende Wirkung hat. Benzyloxymethanol ist ein für Kosmetika, die wieder ausgespült werden, zugelassenes Konservierungsmittel.^[183]

Mit Methylparaben (Abbildung 91C) und Ethylparaben (Abbildung 91D),^[184] sowie 3-Methyl-4-Chlorphenol (Abbildung 91E)^[185] wurden drei Phenolderivate untersucht. Nachteilig bei der Verwendung von Parabenen als Konservierungsmittel für die Mattierungsdispersion war deren geringe Wasserlöslichkeit (siehe Tabelle 35), wobei ein konservierender Effekt nur gegeben ist, wenn die Parabene in Wasser gelöst sind.

Schließlich wurde auch Chlorhexidin getestet (Abbildung 91F), das bereits in vielen antiseptischen Mundspülungen verwendet wird.^[186-187]

Mit Ausnahme des Benzalkoniumchlorids, beeinflussten die getesteten Konservierungsmittel die physikalisch-chemischen Eigenschaften der Mattierungsdispersion nicht signifikant.

Um die Biokompatibilität der Mattierungsdispersionen und somit die potentielle Anwendbarkeit im Mundraum zu testen, wurden biologische Tests an HeLa-Zellen mit einer Standardmethode (MTT-Tests) durchgeführt.^[100] Zur Bestimmung der Zellvitalität wurde die Absorption der Zellen auf die der Kontrolle (unbehandelte Zellen) normalisiert (Tabelle 36).

Tabelle 36: Biokompatibilitätstests (MTT-Tests) unterschiedlicher Mattierungsdispersionen (PVP: Polyvinylpyrrolidon, MC: Methylcellulose, PVA: Polyvinylalkohol, ZRS: Zuckerrübensirup, SK: Stärkekleister, PD2: Preventol D2, BAC: Benzalkoniumchlorid, MP: Methylparaben, EP: Ethylparaben, PCMK PG: Preventol CMK PG, CH: Chlorhexidin; n.b.: nicht bestimmt).

Probe	Zellvitalität nach der Inkubation			
	/ % von der Kontrolle			
	30 min	1 h	5 h	24 h
TiO ₂	n.b.	99±3	95±5	98±5
TiO ₂ mit PVP	n.b.	101±4	97±4	100±8
TiO ₂ mit MC	n.b.	100±3	107±2	101±3
TiO ₂ mit PVA	n.b.	110±8	99±5	119±2
TiO ₂ mit ZRS	n.b.	107±9	87±7	100±8
TiO ₂ mit SK	n.b.	121±6	90±5	88±8
TiO ₂ mit SK und PD2	56±6	27±4	6±1	1±0
TiO ₂ mit SK und BAC	3±0	2±1	2±2	2±0
TiO ₂ mit SK und MP	118±7	92±3	96±5	n.b.
TiO ₂ mit SK und EP	100±4	66±4	74±7	n.b.
TiO ₂ mit SK und PCMK PG	74±4	36±2	2±0	n.b.
TiO ₂ mit SK und CH	8±0	5±0	1±0	n.b.

Die Biokompatibilitätstests zeigen, dass das TiO_2 alleine hervorragend biokompatibel ist. Selbst nach 24 h lässt sich kein toxischer Effekt beobachten. Dabei sind 24 h eine lange Zeitspanne, denn die Mattierungsdispersion wird vom Auftrag bis zur Entfernung mit Wasser nur kurz (einige Minuten) im Mundraum verwendet. Längere Zeiten könnten entstehen, wenn sich die Mattierungsdispersion nicht direkt vollständig mit einem Wasserstrahl abspülen lassen sollte.

Die hervorragende Biokompatibilität von TiO_2 wurde in einer Studie von Han *et al.* nachgewiesen. Hierbei wurden unterschiedliche Formen und Größen von TiO_2 u.a. mit MTT-Tests untersucht, wobei die Biokompatibilität in allen Proben sehr hoch war.^[171]

Durch den Zusatz eines Haftmittels (Polyvinylpyrrolidon, Methylcellulose, Polyvinylalkohol, Zuckerrübensirup und Stärkekleister) ist die Biokompatibilität der gesamten Dispersion weiterhin gut, und die Zellvitalität liegt bei ca. 100 %. Werte >100 % können auftauchen, wenn die Zellen durch die Mattierungsdispersion schneller wachsen als die Zellen, die für die Kontrolle verwendet wurden.

Einige Proben, zu denen Konservierungsmittel zugesetzt wurden, verringern die Zellvitalität (z.B. Benzalkoniumchlorid und Chlorhexidin) bereits nach 30-minütiger Inkubation signifikant. Parabene hingegen zeigen eine gute Biokompatibilität auch nach 5 h Inkubation.

Für die Proben mit Konservierungsmitteln wurden antimikrobielle Tests an *Escherichia coli* durchgeführt.^[188] Alle Konservierungsmittel wurden mit der maximal zulässigen Konzentration angesetzt (diese variiert je nach Konservierungsmittel). Als Positivkontrolle mit starker antibakterieller Wirkung wurde das β -Lactam-Antibiotikum Ampicillin verwendet.

Aufgrund der weißen Trübung der Proben durch das TiO_2 konnten keine photometrischen Untersuchungen durchgeführt werden. Um zu klären, ob eine antibakterielle Wirkung in den Proben vorhanden war, wurde ein Teil der Proben

auf LB-Agar-Platten (d.h. einem festen Nährmedium) ausplattiert. Nach der Inkubation über Nacht bei 37 °C wurde untersucht, ob sich bakterielle Kolonien bildeten. Die Abwesenheit eines Koloniewachstums wurde als positive antibakterielle Wirkung bewertet. Die Anwesenheit von bakteriellen Kolonien weist auf keine oder keine ausreichende antimikrobielle Aktivität hin.

Die Mattierungsdispersionen mit Konservierungsmitteln wurden mit antimikrobiellen Tests untersucht, um die Anwendbarkeit des jeweiligen Konservierungsmittels für die Mattierungsdispersion zu testen.

Die Konservierungsmittel Benzalkoniumchlorid und Preventol D2 alleine zeigen eine erkennbare antibakterielle Wirkung. In Kombination mit TiO₂ trübt sich die Lösung (Abbildung 92A), wobei die Trübung vom TiO₂ und/oder von einem bakteriellen Wachstum stammen kann. Die Mattierungsdispersionen aus Abbildung 92A wurden ausplattiert, und es war kein bakterielles Wachstum sichtbar (Abbildung 92B). Somit können Mattierungsdispersionen basierend auf Stärkekleister mit Benzalkoniumchlorid und dem Formaldehydabspalter Preventol D2 konserviert werden.

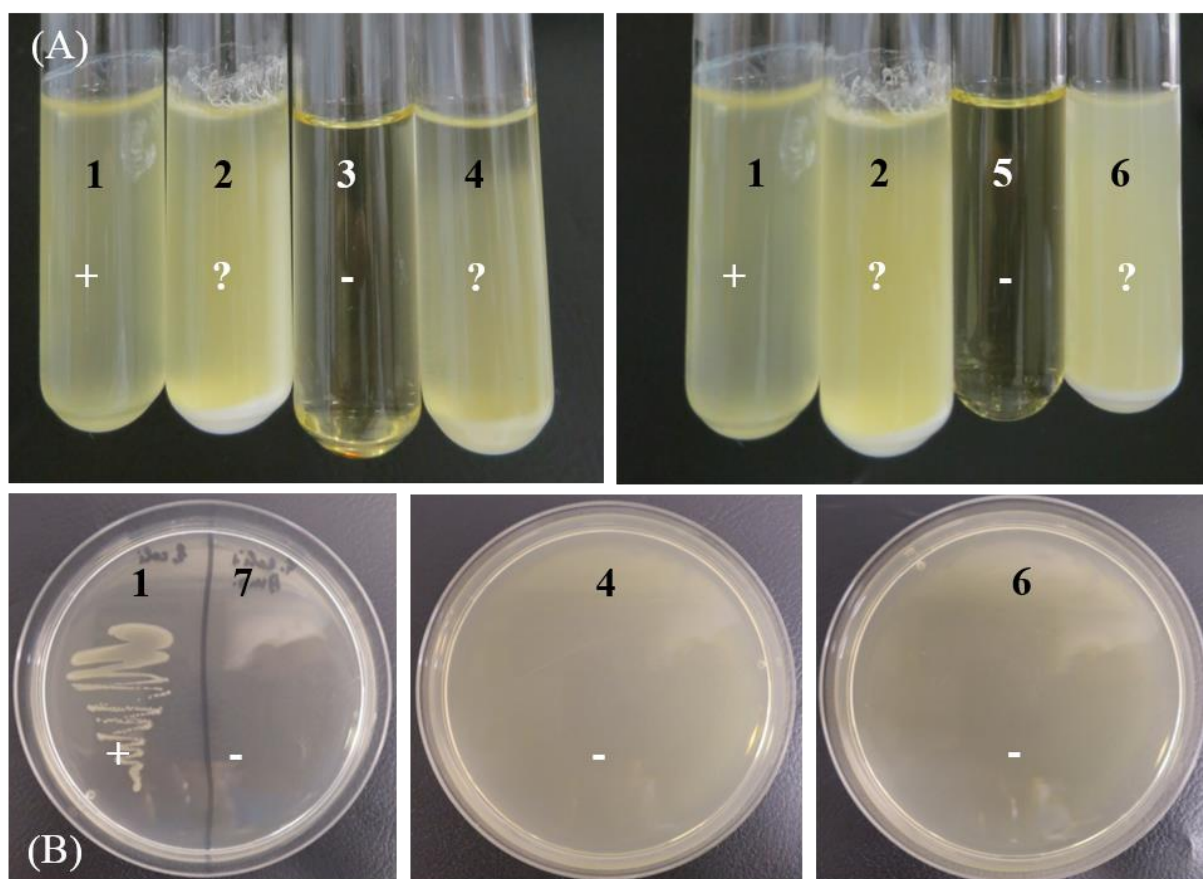


Abbildung 92: Antibakterielle Tests von Benzalkoniumchlorid- und Preventol D2-enthaltenden Mattierungsdispersionen. (A) Inkubation im LB-Medium und (B) ausplattierte Flüssigkeiten aus (A), um zu testen, ob sich bakterielle Kolonien bilden ("+" *E. coli* Wachstum, "-" kein *E. coli* Wachstum, "?" Trübung durch TiO_2 und/oder *E. coli*-Wachstum; 1: Negativkontrolle, d.h. Wasser; 2: TiO_2 ; 3: Benzalkoniumchlorid; 4: TiO_2 /Stärkekleister/Benzalkoniumchlorid; 5: Preventol D2; 6: TiO_2 /Stärkekleister/Preventol D2; 7: Positivkontrolle, d.h. Ampicillin).

Darüber hinaus wurden auch zwei Parabene (Methyl- und Ethylparaben) als Konservierungsmittel getestet (Abbildung 93). Methylparaben hat im Vergleich zu Ethylparaben einen schwächeren antibakteriellen Effekt. Somit eignet sich Methylparaben nicht, um die Mattierungsdispersion zu konservieren. Preventol CMK PG wirkt an *E. coli* bakterizid (Abbildung 93).

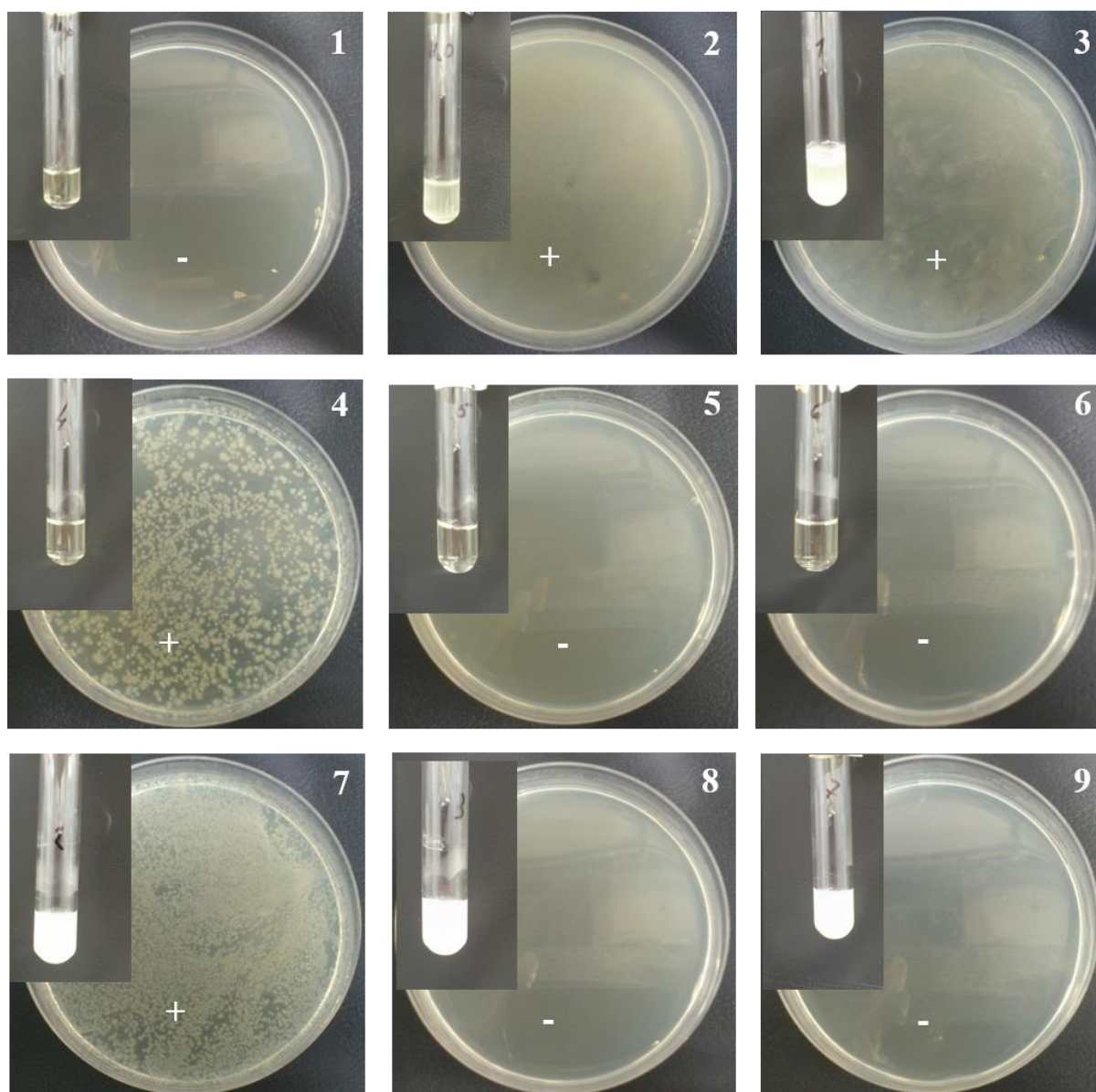


Abbildung 93: Antibakterielle Tests von Methylparaben, Ethylparaben und Preventol CMK PG enthaltenden Mattierungsdispersionen. Die Ergebnisse der Inkubation im LB-Medium im Reagenzglas und die entsprechenden ausplattierten Dispersionen sind dargestellt ("+" *E. coli* Wachstum, "-" kein *E. coli* Wachstum; 1: Positivkontrolle, d.h. Ampicillin; 2: Negativkontrolle, d.h. Wasser; 3: TiO_2 /Stärkekleister; 4: Methylparaben; 5: Ethylparaben; 6: Preventol CMK PG; 7: TiO_2 /Stärkekleister/Methylparaben; 8: TiO_2 /Stärkekleister/Ethylparaben; 9: TiO_2 /Stärkekleister/Preventol CMK PG).

Chlorhexidin hat eine starke toxische Wirkung auf HeLa-Zellen (Tabelle 36). Die Ergebnisse der antimikrobiellen Tests bestätigen diese Ergebnisse. Chlorhexidin alleine und in Kombination mit TiO_2 und Stärkekleister schützt vor einem *E. coli*-Wachstum (Abbildung 94).

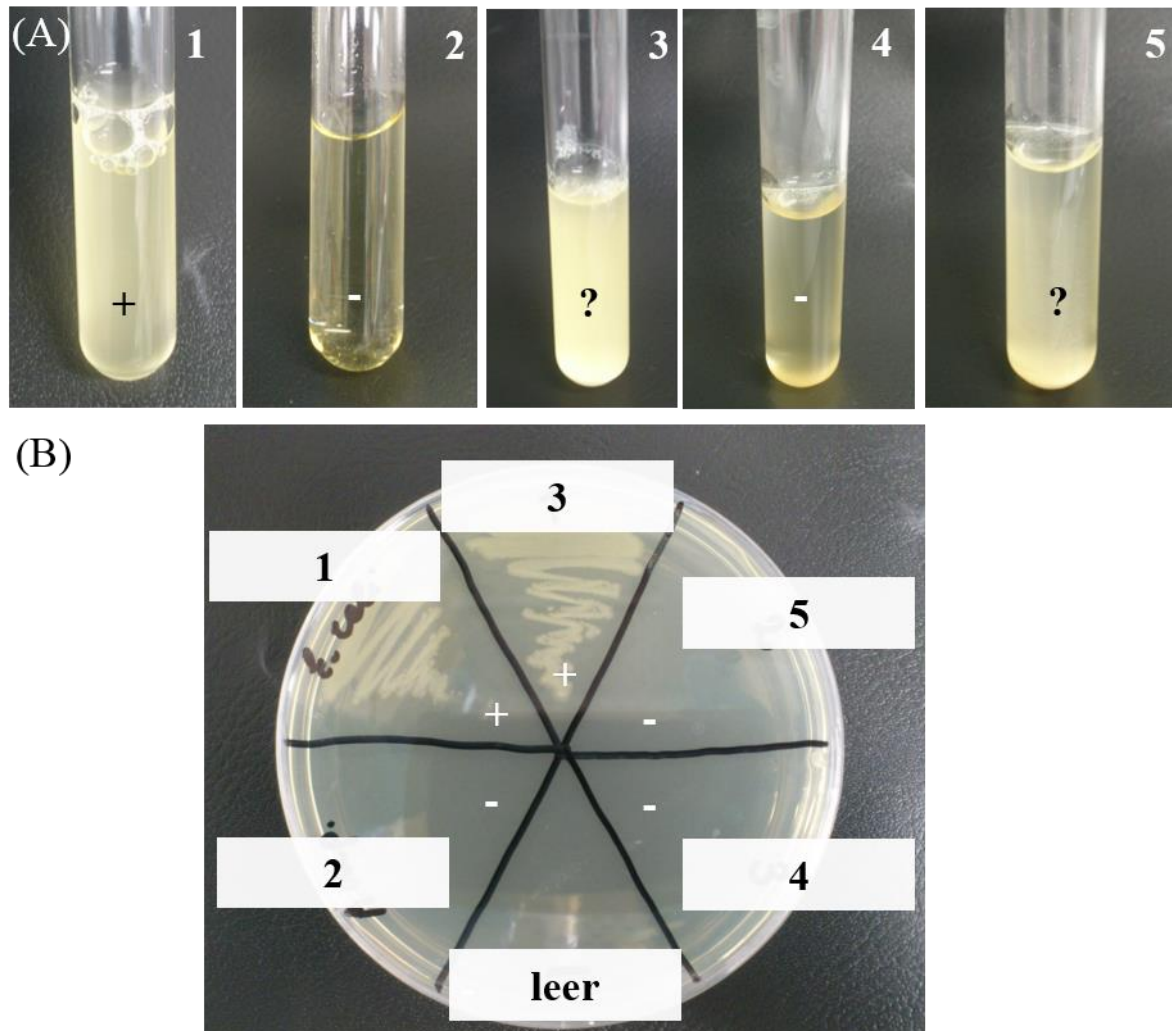


Abbildung 94: Antibakterielle Tests von Chlorhexidin enthaltenden Mattierungsdispersionen. (A) Inkubation im LB-Medium und (B) ausplattierte Flüssigkeiten aus (A) ("+" *E. coli* Wachstum, "-" kein *E. coli* Wachstum, "?" Trübung durch TiO_2 und/oder *E. coli*-Wachstum; 1: Negativkontrolle, d.h. Wasser; 2: Positivkontrolle, d.h. Ampicillin; 3: TiO_2 /Stärkekleister; 4: Chlorhexidin; 5: TiO_2 /Stärkekleister/Chlorhexidin).

Von allen getesteten Konservierungsmitteln ist Chlorhexidin am geeignetsten, um die Mattierungsdispersion vor einem bakteriellen Befall zu schützen. Die

konservierende Wirkung von Chlorhexidin in Kombination mit der Mattierungsdispersion wurde an *E. coli* nachgewiesen. Ein weiterer Vorteil von Chlorhexidin, verglichen mit den anderen hier vorgestellten Konservierungsmitteln, ist, dass Chlorhexidin bereits für die Anwendung im Mundraum verwendet wird.^[186-187]

Die Ausführung und Auswertung der mikrobiologischen Experimente wurde von Frau M.Sc. Chernousova durchgeführt.

5.5.4 Kapitelzusammenfassung: Mattierungsdispersion

Es wurde eine wässrige Mattierungsdispersion auf der Basis von Titandioxid, TiO_2 , in der Modifikation Anatas entwickelt, um Zähne zu mattieren und anschließend dreidimensional mit einer Kamera vermessen zu können. Die Reinheit der TiO_2 -Partikel wurde mittels Röntgenpulverdiffraktometrie und energiedispersiver Röntgenspektroskopie bestätigt. Die TiO_2 -Partikel haben eine kugelförmige Morphologie mit einem Durchmesser von ca. 200-300 nm. Um die TiO_2 -Partikel an unterschiedlichen Oberflächen zu adhären, ist ein Haftmittel notwendig, das biokompatibel sein muss, was die Auswahl an Haftmitteln stark einschränkt. Als Haftmittel eigneten sich besonders Stärkekleister und Polyvinylpyrrolidon (PVP). Diese wurden jeweils in unterschiedlichen Mengen dem TiO_2 zugesetzt. Das Haftverhalten unterschiedlicher Mattierungsdispersionen wurde auf unterschiedlichen Materialoberflächen untersucht, die in der Zahnmedizin von Bedeutung sind. Hierzu gehörten Glas, Gold, Polymethylmethacrylat und Enamel (hier von Kälberzähnen). Auf allen Oberflächen konnte ein gutes Haftverhalten beobachtet werden. Rasterelektronenmikroskopische Aufnahmen zeigten, dass ein dichter Mattierungsfilm erzielt wurde. Der organische Anteil von unterschiedlichen Mattierungsfilmen ist abhängig vom Polymeranteil und wurde mittels Thermogravimetrie bestimmt. Chemisch wurde der Mattierungsfilm mittels energiedispersiver Röntgenspektroskopie untersucht, was die typischen Signale für TiO_2 sowie jeweils für die Haftmittel Stärkekleister bzw. PVP zeigt. Die gute Biokompatibilität der Mattierungsdispersionen aus TiO_2 und Haftmittel zeigte sich in der hohen Zellvitalität in den MTT-Tests. Um die Mattierungsdispersion vor einem mikrobiellen Befall zu schützen, wurden unterschiedliche Konservierungsmittel getestet. Hierzu eignet sich besonders Chlorhexidin. Andere Konservierungsmittel (z.B. Parabene oder Formaldehydabspalter) konservieren die Mattierungsdispersion ebenfalls, sind aber aufgrund ihrer Toxizität nicht primär für den Einsatz im Mundraum bestimmt.

6. Zusammenfassung/Summary

Zusammenfassung

Ziel der Arbeit war die Entwicklung von biomimetischen synthetischen Fluorapatit/Polymer-Dentalkompositen für die Anwendung als Zahnfüllungsmaterial. Überdies wurden Mattierungsdispersionen entwickelt, um von Zähnen digitale 3D-Modelle zu erzeugen.

Als biologische Modellsysteme wurden Haifisch- und Krokodilzähne chemisch, strukturell und mechanisch analysiert. Der Zahnschmelz (Enameloid) der Zähne von rezenten Haifischen besteht aus Fluorapatit, $\text{Ca}_5(\text{PO}_4)_3\text{F}$, wobei der Fluoridgehalt mit 3,1 Gew% nahezu so hoch ist wie in geologischen Fluorapatit-Kristallen (3,64 Gew%). Enameloid zeigt verglichen mit Dentin eine höhere Kristallinität des Mineralanteils. Die Fluorapatit-Kristallite im Enameloid sind sehr dünn (50-80 nm) und sehr lang ($> 1 \mu\text{m}$), und in Bündeln organisiert. Diese Bündel lassen sich in drei Typen einteilen, die sich in ihrer Orientierung unterscheiden: Es gibt umlaufende, radiale und axiale Kristallitbündel. Jedes Kristallitbündel, unabhängig von seiner Orientierung, ist umhüllt von einer dünnen Schicht einer organischen Matrix. Den äußersten Teil des Enameloids bildet der sogenannte "*shiny layer*". Dieser besteht im unbehandelten Zustand aus ungeordneten polyedrischen Kristalliten. Obwohl es innerhalb des Enameloids eine starke strukturelle Anisotropie gibt, sind die lokalen mechanischen Eigenschaften weitgehend isotrop. Vickers-Mikrohärtemessungen und Nanoindentationsexperimente zeigen, dass Enameloid etwa sechsmal härter ist als Dentin. Die Härte von Haifischzähnen (Fluorapatit) und humanen Zähnen (Hydroxylapatit) ist vergleichbar, obwohl Fluorapatit als reines Mineral härter ist als Hydroxylapatit.

Im Gegensatz zu rezenten Haifischzähnen haben Dentin und Enameloid von fossilen Haifischzähnen eine vergleichbare chemische Zusammensetzung (Fluorapatit). Die Enameloid-Mikrostruktur der fossilen Haifischzähne ist sehr gut erhalten und vergleichbar mit der in rezenten Haifischzähnen. Im Dentin

fossiler Haifischzähne sind mittels Rasterelektronenmikroskopie mineralische Substanzen zu erkennen, die im Dentin rezenter Zähne nicht vorhanden sind. Dies könnte auf einen Rekristallisationsprozess während der Diagenese zurückzuführen sein.

Krokodilzähne bestehen aus einem nanokristallinen Hydroxylapatit. Rasterelektronenmikroskopische Aufnahmen zeigen, dass die Enamelschicht verglichen mit humanen Zähnen und Haifischzähnen sehr dünn ist (100-200 µm). Die Kristallite im Enamel sind alle senkrecht zur Zahnoberfläche angeordnet, wobei es keine definierten Kristallitbündel gibt. Durch Thermogravimetrie und Synchrotron-Mikrocomputertomographie wurde ermittelt, dass Enamel den größten Mineralanteil besitzt, gefolgt von Dentin und dem Wurzelzement.

Enameloid rezenter Haifischzähne wurde als Modellsystem für die Entwicklung biomimetischer Dentalkomposite ausgewählt, weil es, im Vergleich zu Hydroxylapatit, aus dem säureresistenteren Fluorapatit besteht. Zudem kann Fluorapatit synthetisch gut in unterschiedlichen Kristallit-Morphologien dargestellt werden.

Zur Darstellung von biomimetischen Kompositen wurde Fluorapatit in unterschiedlichen Kristallit-Morphologien und -Größen hydrothermal synthetisiert. Kombiniert wurden diese Kristallite mit verschiedenen Methacrylat-Monomeren. Die Komposite wurden entweder durch Ultrazentrifugation des Fluorapatits in einer flüssigen Comonomermischung basierend auf Methylmethacrylat und anschließender thermisch initiiert Polymerisation mit Dibenzoylperoxid als Radikalstarter dargestellt, oder durch eine Polymerisation während der Ultrazentrifugation bei Raumtemperatur mit dem Zusatz eines tertiären Amins. Rasterelektronenmikroskopische Aufnahmen zeigen, dass ein kompaktes Material vorzugweise mit dem Amin-Zusatz erhalten wurde. Die Vickers-Härte der Komposite ist höher (0,3-0,4 GPa) als die der reinen Polymermatrix (0,2 GPa), wobei Haifischzähne noch härter sind (Dentin: 0,5-

0,7 GPa; Enameloid: 3-4 GPa). Thermogravimetrische Analysen zeigen, dass der Mineralanteil der synthetischen Komposite bei ca. 60-70 Gew% liegt.

Mattierungsdispersionen wurden auf Basis von Titandioxid (Anatas) und Stärkekleister bzw. Polyvinylpyrrolidon als Haftmittel entwickelt. Ein dichter Mattierungsfilm auf unterschiedlichen dentalen Materialoberflächen wurde mittels Rasterelektronenmikroskopie gezeigt. Analysen des getrockneten Mattierungsfilms mit Thermogravimetrie und energiedispersiver Röntgenspektroskopie zeigen, dass der organische Anteil mit Polyvinylpyrrolidon als Haftmittel höher ist als bei der Verwendung von Stärkekleister. Erste klinische Analysen mit einer 3D-Kamera zeigen, dass geeignete Modelle erzeugt werden konnten. Zur Konservierung der Mattierungsdispersionen eignet sich Chlorhexidin, das bereits kommerziell in vielen antiseptischen Mundspülungen verwendet wird.

Zusammenfassend behandelt die vorliegende Arbeit zwei Aspekte der modernen zahnmedizinischen Materialforschung. Ein Thema war die Charakterisierung von natürlichen Modellsystemen, d.h. Haifisch- und Krokodilzähnen, mit verschiedenen Analysemethoden. Die daraus resultierenden Ergebnisse können genutzt werden, um innovative und biomimetische Zahnersatzmaterialien zu entwickeln. Zudem wurden Mattierungsdispersionen dargestellt, die die Grundlage für moderne 3D-Abbildungstechniken sind. Dies kann dazu genutzt werden, um schnelle und exakte Zahnabdrücke zu erhalten.

Summary

"Development of dental materials: Fluoroapatite/polymer-composite materials based on the microstructure of shark teeth and dulling liquids for intraoral tooth visualization"

The aim of this study was the development of synthetic biomimetic fluoroapatite/polymer-composites, designed for their application as tooth restoration material. Additionally, dulling liquids for digital imaging of teeth were developed.

Shark teeth and crocodile teeth were chosen as model systems, and thoroughly analyzed with various analytical methods. The outer layer of recent shark teeth (enameloid) consists of fluoroapatite, $\text{Ca}_5(\text{PO}_4)_3\text{F}$, with a fluoride content of 3.1 wt%, which is nearly as high as in geological fluoroapatite crystals (3.64 wt%). The enameloid layer shows a higher crystallinity of the mineral phase compared to dentin. Enameloid consists of thin (50-80 nm) and long ($> 1 \mu\text{m}$) crystallites of fluoroapatite which are hierarchically organized in bundles. Three types of bundles with different orientations are present within the enameloid: circumferential, radial and axial crystallite bundles. Each crystallite bundle, regardless of its orientation, is covered by a thin layer of organic matrix. The outermost layer of the enameloid consists of the so-called "*shiny layer*", which is composed of randomly oriented solid polyhedral crystallites. Although there is a strong structural anisotropy within the enameloid, the local mechanical properties are widely isotropic. Vickers microhardness tests and nanoindentation experiments indicated that enameloid is about six times harder than dentin. The hardness of shark teeth (fluoroapatite) and human teeth (hydroxyapatite) is comparable, although, as pure mineral, fluoroapatite is harder than hydroxyapatite.

In contrast to recent shark teeth, enameloid and dentin of fossilized shark teeth show similar chemical compositions, i.e., nearly stoichiometric fluoroapatite.

The enameloid microstructure of fossilized shark teeth has been well preserved and is comparable to the microstructure of recent shark teeth. Scanning electron micrographs of dentin of fossilized shark teeth showed that mineral substances are present, which may be due to recrystallization processes during diagenesis.

Crocodile teeth consist of nanocrystalline hydroxyapatite. Scanning electron micrographs showed that the enamel layer is very thin (100-200 μm), in contrast to thicker layers found in human and shark teeth. The crystallites of the enameloid are oriented perpendicularly to the tooth surface, and no defined crystallite bundles can be observed. Enamel has the highest mineral content, followed by dentin and cementum as shown by thermogravimetry and synchrotron microcomputer tomography.

Shark tooth enameloid was selected as a model system for the development of biomimetic dental composites because it consists of fluoroapatite which has a higher acid stability than hydroxyapatite. Additionally, fluoroapatite can be readily synthesized in various crystallite morphologies.

For the preparation of biomimetic composites, fluoroapatite was hydrothermally synthesized in different crystallite morphologies and sizes. The crystallites were combined with different methacrylate monomers. The composites were then prepared using either of two routines. Firstly, through ultracentrifugation of fluoroapatite in a liquid comonomer mixture (based on methyl methacrylate), followed by a thermally initiated polymerization using dibenzoyl peroxide as a radical initiator. Alternatively, composites were synthesized via polymerization during ultracentrifugation at room temperature, with the second routine, utilizing the addition of a tertiary amine. Scanning electron micrographs showed that a compact material was achieved more effectively with the second routine, utilizing the addition of a tertiary amine. The composites showed higher Vickers hardness values (0.3-0.4 GPa) compared to the pure polymer matrix (0.2 GPa), whereas shark teeth are even harder (dentin: 0.5-0.7 GPa; enameloid: 3-4 GPa). The

mineral content of the synthetic composites was 60-70 wt% as determined by thermogravimetry.

Dulling liquids based on titanium dioxide (anatase) and a starch paste or polyvinylpyrrolidone were prepared. The resulting matting films densely covered different dental materials as shown by scanning electron microscopy.

Furthermore, the dried matting films were analyzed by thermogravimetry and energy dispersive X-ray spectroscopy. In matting films which contained polyvinylpyrrolidone as adhesive the organic content is higher than with adhesives based on starch paste. First clinical analyses using 3D imaging showed that suitable models could be produced. Additionally, chlorhexidine can be used as a preservative because it is already found in commercially produced antiseptic mouthwashes.

This work has covered two important aspects of modern dental material science: First, a thorough analysis of natural model systems (i.e., shark teeth and crocodile teeth) can foster research for innovative dental materials with improved durability and stability. Second, efficient matting films which are a prerequisite for modern, computer-based 3D imaging were developed. This can be used to obtain faster and more exact dental impressions.

7. Literatur

- [1] S. V. Dorozhkin, M. Epple, *Angew. Chem.* **2002**, *114*, 3260-3277.
- [2] H. A. Lowenstam, S. Weiner, *On biomineralization*, Oxford University Press, New York, **1989**.
- [3] J. W. C. Dunlop, P. Fratzl, *Annu. Rev. Mater. Res.* **2010**, *40*, 1-24.
- [4] M. F. Teaford, M. M. Smith, M. W. J. Ferguson, *Development, function and evolution of teeth*, Cambridge University Press, Cambridge, **2000**.
- [5] S. Busch, U. Schwarz, R. Kniep, *Chem. Mater.* **2001**, *13*, 3260-3271.
- [6] R. Z. LeGeros, *Prog. Cryst. Growth Charact.* **1981**, *4*, 1-45.
- [7] J. Zheng, F. Xiao, L. M. Qian, Z. R. Zhou, *Tribol. Int.* **2009**, *42*, 1558-1564.
- [8] F. Lippert, D. M. Parker, K. D. Jandt, *J. Coll. Interf. Sci.* **2004**, *280*, 442-448.
- [9] J. D. B. Featherstone, *Aust. Dent. J.* **2008**, *53*, 286-291.
- [10] R. Z. LeGeros, *J. Dent. Res.* **1990**, *69* 567-574.
- [11] A. Groß, *Chem. unserer Zeit* **1979**, *13*, 142-146.
- [12] R. G. Craig, D. Welker, J. Rothaut, K. G. Krumbholz, K. P. Stefan, K. Dermann, H. J. Rehberg, G. Franz, K. M. Lehmann, M. Borchert, in *Ullmann's Encyclopedia of Industrial Chemistry*, Wiley-VCH, Weinheim, **2006**.
- [13] J. F. McCabe, A. Walls, *Applied Dental Materials*, Blackwell, Oxford, **2008**.
- [14] R. G. Craig, J. M. Powers, J. C. Wataha, *Zahnärztliche Werkstoffe*, Elsevier, München, **2006**.
- [15] GKV-Spitzenverband, *Kennzahlen der gesetzlichen Krankenversicherung*, Berlin, **2012**.
- [16] E. Wintermantel, S. W. Ha, *Medizintechnik*, Springer, Berlin, **2008**.
- [17] M. Hannig, C. Hannig, *Nat. Nano.* **2010**, *5*, 565-569.
- [18] S. Bechtle, S. Habelitz, A. Klocke, T. Fett, G. A. Schneider, *Biomaterials* **2009**, *31*, 375-384.

- [19] V. Imbeni, J. J. Kruzic, G. W. Marshall, S. J. Marshall, R. O. Ritchie, *Nat. Mater.* **2005**, 4, 229-232.
- [20] M. Yahyazadehfar, D. Bajaj, D. D. Arola, *Acta Biomater.* **2013**, 9, 4806-4814.
- [21] S. Renneckar, *Wood Fiber Sci.* **2013**, 45, 3-14.
- [22] O. Paris, I. Burgert, P. Fratzl, *MRS Bull.* **2010**, 35, 219-225.
- [23] A. Maerten, P. Fratzl, O. Paris, P. Zaslansky, *Biomaterials* **2010**, 31, 5479-5490.
- [24] S. K. Padmanabhan, A. Balakrishnan, M.-C. Chu, T. Kim, S. J. Cho, *Dent. Mater.* **2010**, 26, 100-104.
- [25] M. P. Walker, B. Fricke, in *Wiley Encyclopedia of Biomedical Engineering* (Ed.: M. Akay), John Wiley & Sons, Inc., New York, **2006**.
- [26] P. Senawongse, M. Otsuki, J. Tagami, I. Mjor, *Arch. Oral Biol.* **2006**, 51, 457-463.
- [27] P. S. Andreev, *Microsc. Res. Tech.* **2010**, 73, 704-713.
- [28] M. Kesmez, J. Lyon, D. L. Cocke, *Adv. X-Ray Anal.* **2004**, 47, 327-337.
- [29] I. J. Moeller, B. Melsen, S. J. Jensen, E. Kirkegaard, *Arch. Oral Biol.* **1975**, 20, 797-802.
- [30] G. M. Erickson, P. M. Gignac, S. J. Steppan, A. K. Lappin, K. A. Vliet, J. D. Brueggen, B. D. Inouye, D. Kledzik, G. J. W. Webb, *PLoS One* **2012**, 7, 1-12.
- [31] A. Ender, *CEREC Basiswissen 4.0: Ein klinischer Leitfaden*, Sirona Dental Systems GmbH, Bensheim, **2011**.
- [32] S. F. Ang, E. L. Bortel, M. V. Swain, A. Klocke, G. A. Schneider, *Biomaterials* **2010**, 31, 1955-1963.
- [33] J. E. Eastoe, *Nature* **1960**, 187, 411-412.
- [34] W.-E. Reif, D. McGill, P. Motta, *Zoll. Jb. Anat.* **1978**, 99, 151-156.
- [35] H. Preuschoft, W. E. Reif, W. H. Muller, *Z. Anat. Entwicklungsgesch.* **1974**, 143, 315-344.

- [36] J. J. Powlik, *J. Morphol.* **1995**, 226, 277-288.
- [37] T. H. Frazzetta, *Zoomorphology* **1988**, 108, 93-107.
- [38] L. B. Whitenack, P. J. Motta, *Biol. J. Linn. Soc.* **2010**, 100, 271-286.
- [39] G. Cuny, O. Rieppel, P. M. Sander, *Zool. J. Linn. Soc.* **2001**, 133, 285-301.
- [40] G. Cuny, S. Risnes, *J. Vert. Paleont.* **2005**, 3, 8.
- [41] J. Enax, O. Prymak, D. Raabe, M. Eppel, *J. Struct. Biol.* **2012**, 178, 290-299.
- [42] J. E. Glas, *Odontol. Rev.* **1962**, 13, 315-326.
- [43] G. Daculsi, L. M. Kerebel, *Arch. Oral. Biol.* **1980**, 25, 145-151.
- [44] S. Suga, Y. Taki, K. Wada, *Jap. J. Ichthyol.* **1983**, 30, 81-93.
- [45] I. Sasagawa, *Microsc. Res. Tech.* **2002**, 59, 396-407.
- [46] I. Sasagawa, J. Akai, *J. Electron Microsc.* **1992**, 41, 242-252.
- [47] A. Janke, A. Gullberg, S. Hughes, R. K. Aggarwal, U. Arnason, *J. Mol. Evol.* **2005**, 61, 620-626.
- [48] Y. Dauphin, *Palaentolog. Z.* **1987**, 61, 331-337.
- [49] A. Sahni, *Scanning Microsc.* **1987**, 1, 1903-1912.
- [50] P. M. Sander, *The microstructure of reptilian tooth enamel: terminology, function, and phylogeny*, Verlag Dr. Friedrich Pfeil, München, **1999**.
- [51] P. M. Sander, in *Development, function and evolution of teeth* (Eds.: M. F. Teaford, M. M. Smith, M. W. J. Ferguson), Cambridge University Press, Cambridge, **2000**.
- [52] J. A. Kieser, C. Klapsidis, L. Law, M. Marion, *J. Morphol.* **1993**, 218, 195-201.
- [53] J. W. Osborn, *J. Theor. Biol.* **1974**, 46, 509-527.
- [54] D. F. G. Poole, *Proc. Zool. Soc. Lond.* **1961**, 136, 131-140.
- [55] P. Wu, X. Wu, T.-X. Jiang, R. M. Elsey, B. L. Temple, S. J. Divers, T. C. Glenn, K. Yuan, M.-H. Chen, R. B. Widelitz, C.-M. Chuong, *Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A.* **2013**, 110, 2009-2018.
- [56] S. C. Marks Jr., H. E. Schroeder, *Anat. Rec.* **1996**, 245, 374-393.

- [57] E. Wiberg, A. F. Holleman, N. Wiberg, *Lehrbuch der Anorganischen Chemie*, De Gruyter, Berlin, **1995**.
- [58] M. Epple, *Biomaterialien und Biomineralisation. Eine Einführung für Naturwissenschaftler, Mediziner und Ingenieure*, Teubner, Wiesbaden, **2003**.
- [59] A. L. Boskey, *Elements* **2007**, 3, 385-391.
- [60] T. Aoba, *Crit. Rev. Oral Biol. Med.* **1997**, 8, 136-153.
- [61] F. Brunet, D. R. Allan, S. A. T. Redfern, R. J. Angel, R. Miletich, H. J. Reichmann, J. Sergent, M. Hanfland, *Eur. J. Mineral.* **1999**, 11, 1023-1035.
- [62] T. N. Gardner, J. C. Elliott, Z. Sklar, G. A. Briggs, *J. Biomech.* **1992**, 25, 1265-1277.
- [63] D. J. Crommelin, W. I. Higuchi, J. L. Fox, P. J. Spooner, A. V. Katdare, *Caries Res.* **1983**, 17, 289-296.
- [64] H. Chen, Z. Tang, J. Liu, K. Sun, S. R. Chang, M. C. Peters, J. F. Mansfield, A. Czajka-Jakubowska, B. H. Clarkson, *Adv. Mater.* **2006**, 18, 1846-1851.
- [65] Y.-J. Wu, Y.-H. Tseng, J. C. C. Chan, *Cryst. Growth Des.* **2010**, 10, 4240-4242.
- [66] C. Zhang, J. Yang, Z. Quan, P. Yang, C. Li, Z. Hou, J. Lin, *Cryst. Growth Des.* **2009**, 9, 2725-2733.
- [67] J. S. Earl, D. J. Wood, S. J. Milne, *J. Phys.: Conf. Ser.* **2005**, 26, 268-271.
- [68] I. S. Neira, Y. V. Kolenko, O. I. Lebedev, G. Van Tendeloo, H. S. Gupta, F. Guitian, M. Yoshimura, *Cryst. Growth Des.* **2009**, 9, 466-474.
- [69] A. Rabenau, *Angew. Chem.* **1985**, 97, 1017-1032.
- [70] H. Fabritius, C. Sachs, P. R. Triguero, D. Raabe, *Adv. Mater.* **2009**, 21, 391-400.
- [71] M. A. Meyers, J. McKittrick, P.-Y. Chen, *Science* **2013**, 339, 773-779.
- [72] L. B. Whitenack, D. C. Simkins Jr., P. J. Motta, *J. Morphol.* **2011**, 272, 169-179.

- [73] P. Y. Chen, A. Y. M. Lin, Y. S. Lin, Y. Seki, A. G. Stokes, J. Peyras, E. A. Olevsky, M. A. Meyers, J. McKittrick, *J. Mech. Behav. Biomed. Mater.* **2008**, *1*, 208-226.
- [74] S. Nikolov, M. Petrov, L. Lymperakis, M. Friak, C. Sachs, H. Fabritius, D. Raabe, J. Neugebauer, *Adv. Mater.* **2010**, *22*, 519-526.
- [75] S. Nikolov, H. Fabritius, M. Petrov, M. Friak, L. Lymperakis, C. Sachs, D. Raabe, J. Neugebauer, *J. Mech. Behav. Biomed. Mater.* **2011**, *4*, 129-145.
- [76] J. Enax, H. Fabritius, A. Rack, O. Prymak, D. Raabe, M. Epple, *J. Struct. Biol.* **2013**, *184*, 155-163.
- [77] J. Enax, A. M. Janus, D. Raabe, M. Epple, H. Fabritius, *Acta Biomater.* **2014**, *10*, 3959-3968.
- [78] M. Henzler, W. Göpel, *Oberflächenphysik des Festkörpers*, Teubner, Stuttgart, **1994**.
- [79] in *Römpp Online-Enzyklopädie*, Thieme, Stuttgart, **2014**.
- [80] W. Massa, *Kristallstrukturbestimmung*, Vieweg und Teubner, Wiesbaden, **2009**.
- [81] G. Schwedt, *Analytische Chemie*, Wiley-VCH, Weinheim, **2008**.
- [82] G. Schwedt, *Taschenatlas der Analytik*, Wiley-VCH, Weinheim, **2007**.
- [83] H. Naumer, W. Heller, *Untersuchungsmethoden in der Chemie: Einführung in die moderne Analytik*, Thieme, Stuttgart, **2002**.
- [84] M. Otto, *Analytische Chemie*, Wiley-VCH, Weinheim, **2006**.
- [85] A. Dominik, D. Steinhilber, *Instrumentelle Analytik*, Deutscher Apotheker-Verlag, Stuttgart, **2002**.
- [86] M. Hesse, H. Meier, B. Zeeh, *Spektroskopische Methoden in der organischen Chemie*, Thieme, Stuttgart, **2005**.
- [87] W. Seidel, *Werkstofftechnik*, Hanser, München, **2007**.
- [88] B. Heine, *Werkstoffprüfung*, Hanser, München, **2011**.
- [89] H. J. Bargel, G. Schulze, *Werkstoffkunde*, Springer, Berlin, **2008**.
- [90] A. C. Fischer-Cripps, *Nanoindentation*, Springer, New York, **2011**.

- [91] S. Suresh, T. G. Nieh, B. W. Choi, *Scr. Mater.* **1999**, *41*, 951-957.
- [92] S. Chen, L. Liu, T. Wang, *Surf. Coat. Technol.* **2005**, *191*, 25-32.
- [93] D. M. Ebenstein, L. A. Pruitt, *Nano Today* **2006**, *1*, 26-33.
- [94] C. Sachs, H. Fabritius, D. Raabe, *J. Mater. Res.* **2006**, *21*, 1987-1995.
- [95] H. Fabritius, E. S. Karsten, K. Balasundaram, S. Hild, K. Huemer, D. Raabe, *Z. Krist.* **2012**, *227*, 766-776.
- [96] W. C. Oliver, G. M. Pharr, *J. Mater. Res.* **1992**, *7*, 1564-1583.
- [97] H. P. Klug, L. E. Alexander, *X-ray diffraction procedures for polycrystalline and amorphous materials*, Wiley-Interscience, New York, **1974**.
- [98] T. Weitkamp, P. Tafforeau, E. Boller, P. Cloetens, J.-P. Valade, P. Bernard, F. Peyrin, W. Ludwig, L. Helfen, J. Baruchel, in *X-Ray Optics and Microanalysis, Proceedings, Vol. 1221* (Eds.: M. A. Denecke, C. T. Walker), **2010**, pp. 33-38.
- [99] C. A. Schneider, W. S. Rasband, K. W. Eliceiri, *Nat. Methods* **2012**, *9*, 671-675.
- [100] J. Klesing, S. Chernousova, M. Epple, *J. Mater. Chem.* **2012**, *22*, 199-204.
- [101] D. Kozlova, S. Chernousova, T. Knuschke, J. Buer, A. M. Westendorf, M. Epple, *J. Mater. Chem.* **2012**, *22*, 396-404.
- [102] Evonik, *High performance beads dental applications: DEGACRYL® Product Range*, **2010**.
- [103] N. Banduhn, B. Brede, G. Brede, A. Groß, A. Heßland, I. Janssen, H. Wambach, W. Weber, *Informationsserie des Fonds der Chemischen Industrie: Kleben/Klebstoffe*, Frankfurt, **2001**.
- [104] M. B. Lopes, M. A. C. Sinhoreti, J. A. Gonini, S. Consani, J. F. McCabe, *Braz. Dent. J.* **2009**, *20*, 279-283.
- [105] J. A. Gillis, P. C. J. Donoghue, *J. Morphol.* **2007**, *268*, 33-49.
- [106] Y. R. Jeng, T. T. Lin, H. M. Hsu, H. J. Chang, D. B. Shieh, *J. Mech. Behav. Biomed. Mater.* **2011**, *4*, 515-522.

- [107] T. Kodaka, *Anat. Sci. Int.* **2003**, 78, 79-84.
- [108] A. J. Gwinnett, *Arch. Oral Biol.* **1967**, 12, 381-388.
- [109] C. Chen, Z. Wang, M. Saito, T. Tohei, Y. Takano, Y. Ikuhara, *Angew. Chem. Int. Ed.* **2014**, 53, 1543-1547.
- [110] J. Ge, F. Z. Cui, X. M. Wang, H. L. Feng, *Biomaterials* **2005**, 26, 3333-3339.
- [111] M. L. Moss, S. J. Jones, K. A. Piez, *Science* **1964**, 145, 940-942.
- [112] P. T. Levine, M. J. Glimcher, J. M. Seyer, J. I. Huddleston, J. W. Hein, *Science* **1966**, 154, 1192-1194.
- [113] E. E. Graham, *J. Exp. Zool.* **1985**, 234, 185-191.
- [114] R. Z. LeGeros, S. Suga, *Calcif. Tissue Int.* **1980**, 32, 169-174.
- [115] A. J. Karttunen, F. Kraus, *Angew. Chem. Int. Ed.* **2014**, 53, 5502-5503.
- [116] L. M. Rodriguez-Lorenzo, J. N. Hart, K. A. Gross, *J. Phys. Chem. B* **2003**, 107, 8316-8320.
- [117] A. T. Saenger, W. F. Kuhs, *Z. Kristallogr.* **1992**, 199, 123-148.
- [118] F. Peters, K. Schwarz, M. Epple, *Thermochim. Acta* **2000**, 361, 131-138.
- [119] R. Z. LeGeros, in *Hydroxyapatite and related materials* (Eds.: P. W. Brown, B. Constantz), CRC Press, Boca Raton, **1994**.
- [120] L. B. Whitenack, D. C. Simkins Jr., P. J. Motta, M. Hirai, A. Kumar, *Arch. Oral Biol.* **2010**, 55, 203-209.
- [121] L. Qian, M. Li, Z. Zhou, H. Yang, X. Shi, *Surf. Coat. Technol.* **2005**, 195, 264-271.
- [122] S. Saber-Samandari, K. A. Gross, *Acta Biomater.* **2009**, 5, 2206-2212.
- [123] B. Viswanath, R. Raghavan, U. Ramamurty, N. Ravishankar, *Scr. Mater.* **2007**, 57, 361-364.
- [124] G. W. Marshall, S. Habelitz, R. Gallagher, M. Balooch, G. Balooch, S. J. Marshall, *J. Dent. Res.* **2001**, 80, 1768-1771.
- [125] G. Willems, J. P. Celis, P. Lambrechts, M. Braem, G. Vanherle, *J. Biomed. Mater. Res.* **1993**, 27, 747-755.

- [126] M. del Pilar Gutierrez-Salazar, J. Reyes-Gasga, *Mater. Res.* **2003**, 6, 367-373.
- [127] H. Fabritius, E. S. Karsten, K. Balasundaram, S. Hild, K. Huemer, D. Raabe, *Z. Kristallogr.* **2012**, 227, 766-776.
- [128] M. C. Sha, Z. Li, R. C. Bradt, *J. Appl. Phys.* **1994**, 75, 7784-7787.
- [129] J.-P. Cuif, Y. Dauphin, J. E. Sorauf, *Biominerals and fossils through time*, Cambridge University Press, Cambridge, **2011**.
- [130] J. Labs-Hochstein, B. J. MacFadden, *Geochim. Cosmochim. Acta* **2006**, 70, 4921-4932.
- [131] S. R. P. Line, P. D. Novaes, *Braz. J. Morphol. Sci.* **2005**, 22, 67-72.
- [132] L. H. He, M. V. Swain, *J. Mech. Behav. Biomed. Mater.* **2008**, 1, 18-29.
- [133] E. D. Yilmaz, S. Bechtle, H. Oezcoban, A. Schreyer, G. A. Schneider, *Scr. Mater.* **2013**, 68, 404-407.
- [134] I. Sato, K. Shimada, A. Yokoi, J. C. Handal, N. Asuwa, T. Ishii, *J. Morphol.* **1990**, 205, 165-172.
- [135] S. V. Dorozhkin, M. Epple, *Angew. Chem. Int. Ed.* **2002**, 41, 3130-3146.
- [136] Y. Dauphin, C. T. Williams, *Mineral. Mag.* **2008**, 72, 247-250.
- [137] Y. Dauphin, C. T. Williams, *CrystEngComm.* **2007**, 9, 1252-1261.
- [138] J. Xue, L. Zhang, L. Zou, Y. Liao, J. Li, L. Xiao, W. Li, *J. Synchrotron Radiat.* **2008**, 15, 235-238.
- [139] O. Masayuki, T. Junzo, K. Hiroshi, *J. Osaka Univ. Dent. Sch.* **1986**, 26, 79-89.
- [140] J. Zhou, X. Zhang, J. Chen, S. Zeng, K. De Groot, *J. Mater. Sci.: Mater. Med.* **1993**, 4, 83-85.
- [141] J. J. Lim, A. R. Liboff, *J. Dent. Res.* **1972**, 51, 509-514.
- [142] S. Malek, M. A. Darendeliler, M. V. Swain, *Am. J. Orthod. Dentofacial Orthop.* **2001**, 120, 198-208.
- [143] P. Lucas, P. Constantino, B. Wood, B. Lawn, *BioEssays* **2008**, 30, 374-385.

- [144] O. Prymak, V. Sokolova, T. Peitsch, M. Epple, *Cryst. Growth Des.* **2006**, 6, 498-506.
- [145] M. Brahm, *Polymerchemie kompakt*, Hirzel, Stuttgart, **2005**.
- [146] R. Q. Frazer, R. T. Byron, P. B. Osborne, K. P. West, *J. Long-Term Eff. Med. Implants* **2005**, 15, 629-639.
- [147] J. C. J. Webb, R. F. Spencer, *J. Bone Jt. Surg., Br. Vol.* **2007**, 89, 851-857.
- [148] S. Eiden-Assmann, M. Viertelhaus, A. Heiss, K. A. Hoetzer, J. Felsche, *J. Inorg. Biochem.* **2002**, 91, 481-486.
- [149] Evonik, *Visiomer: Methacrylate monomers - Sales range*, **2011**.
- [150] H. D. Jakubke, *Lexikon der Chemie*, Spektrum, Heidelberg, **1999**.
- [151] B. Tieke, *Makromolekulare Chemie*, Wiley-VCH, Weinheim, **2005**.
- [152] C. S. Sheppard, V. R. Kamath, *Polym. Eng. Sci.* **1979**, 19, 597-606.
- [153] Evonik, *Product information Dynasylan MEMO*, **2013**.
- [154] Evonik, *Technische Information Plexiglas*, **2013**.
- [155] M. D. Lechner, K. Gehrke, E. H. Nordmeier, *Makromolekulare Chemie*, Birkhäuser, Basel, **2009**.
- [156] J. Lal, R. Green, *J. Polym. Sci.* **1955**, 17, 403-409.
- [157] D. A. Tagtekin, F. C. Yanikoglu, F. O. Bozkurt, B. Kologlu, H. Sur, *Dent. Mater.* **2004**, 20, 487-497.
- [158] M. Hannig, C. Hannig, *Nat. Nanotechnol.* **2010**, 5, 565-569.
- [159] E. W. Taylor, *Mineral. Mag. J. Mineral. Soc.* **1949**, 28, 718-721.
- [160] T. Kalteis, C. Luring, G. Gugler, S. Zysk, W. Caro, M. Handel, J. Grifka, *Z. Orthop. Grenzgeb.* **2004**, 142, 666-672.
- [161] D. Granchi, S. Stea, G. Ciapetti, L. Savarino, D. Cavedagna, A. Pizzoferrato, *Biomaterials* **1995**, 16, 1187-1192.
- [162] Z. Tang, N. A. Kotov, S. Magonov, B. Ozturk, *Nat. Mater.* **2003**, 2, 413-418.
- [163] J. Sun, B. Bhushan, *RSC Adv.* **2012**, 2, 7617-7632.

- [164] R. M. Erb, R. Libanori, N. Rothfuchs, A. R. Studart, *Science* **2012**, 335, 199-204.
- [165] M. Neumeier, L. A. Hails, S. A. Davis, S. Mann, M. Epple, *J. Mater. Chem.* **2011**, 21, 1250-1254.
- [166] I. Park, S. H. Ko, Y. S. An, K. H. Choi, H. Chun, S. Lee, G. Kim, *J. Nanosci. Nanotechnol.* **2009**, 9, 7224-7228.
- [167] R. Z. LeGeros, L. M. Silverstone, G. Daculsi, L. M. Kerebel, *J. Dent. Res.* **1983**, 62, 138-144.
- [168] M. R. C. Marques, R. Loebenberg, M. Almukainzi, *Dissolution Technol.* **2011**, 18, 15-28.
- [169] G. Auer, P. Woditsch, A. Westerhaus, J. Kischkewitz, W. D. Griebler, M. De Liedekerke, in *Ullmann's Encyclopedia of Industrial Chemistry*, Wiley-VCH, Weinheim, **2000**.
- [170] G. Pfaff, P. Reynders, *Chem. Rev.* **1999**, 99, 1963-1981.
- [171] W. Han, Y. D. Wang, Y. F. Zheng, *Adv. Mater. Res.* **2008**, 47-50, 1438-1441.
- [172] X. Chen, S. S. Mao, *Chem. Rev.* **2007**, 107, 2891-2959.
- [173] *KRONOS® 1171, Kronos Information 2.2* **2012**.
- [174] M. Horn, C. F. Schwerdtfeger, E. P. Meagher, *Z. Kristallogr., Kristallgeom., Kristallphys., Kristallchem.* **1972**, 136, 273-281.
- [175] G. Habenicht, *Kleben: Grundlagen, Technologien, Anwendungen*, Springer, Berlin, **2009**.
- [176] H. Onusseit, *Biol. Unserer Zeit* **2004**, 34, 307-314.
- [177] H. Onusseit, R. Wefringhaus, G. Dreezen, J. Wichelhaus, J. Schall, L. Thiele, A. van Halteren, in *Ullmann's Encyclopedia of Industrial Chemistry*, Wiley-VCH Weinheim, **2000**.
- [178] H. Onusseit, R. Wefringhaus, G. Dreezen, B. Kneafsey, J. Wichelhaus, T. Bachon, K. Becker, C. Chen, D. Dausmann, T. Gillitzer, R. Gossen, S. Gupta, M. Holloway, K. Iida, A. F. Jacobine, S. Kopannia, O.

- Lammerschop, D. Lu, B. Mayer, C. Meckel-Jonas, S. Picker, M. Pröbster, M. Ruyters, H.-P. Sattler, B. Schöttmer, U. Windhövel, in *Ullmann's Encyclopedia of Industrial Chemistry*, Wiley-VCH Weinheim, **2000**.
- [179] J. N. BeMiller, K. C. Huber, in *Ullmann's Encyclopedia of Industrial Chemistry*, Wiley-VCH Weinheim, **2000**.
- [180] J. Liu, S. Zhao, *Starch* **1990**, 42, 96-98.
- [181] P. C. Schmidt, M. Franck, *Pharm. Unserer Zeit* **1993**, 22, 39-44.
- [182] A. D. Russell, *J. Antimicrob. Chemother.* **2003**, 52, 750-763.
- [183] Lanxess, *Preventol D2: Produkt-Information*, **2013**.
- [184] *Paratexin preservatives, parabens esters product description*.
- [185] Lanxess, *Preventol CMK/CMK-Na: Produkt-Information*, **2012**.
- [186] A. Kovtun, D. Kozlova, K. Ganesan, C. Biewald, N. Seipold, P. Gaengler, W. H. Arnold, M. Epple, *RSC Adv.* **2012**, 2, 870-875.
- [187] N. P. Lang, M. C. Brex, *J. Periodontal Res.* **1986**, 21, 74-89.
- [188] C. Greulich, D. Braun, A. Peetsch, J. Diendorf, B. Siebers, M. Epple, M. Koeller, *RSC Adv.* **2012**, 2, 6981-6987.

8. Anhang

8.1 Abkürzungsverzeichnis

2-Hydroxyethylmethacrylat	HEMA
3-Methacryloxypropyltrimethoxysilan	MEMO
Atomabsorptionsspektrometrie	AAS
Azoisobutyronitril	AIBN
C	Wurzelzement
D	Dentin
DCÜ	Dentin-Wurzelzement-Übergang
DEÜ	Dentin-Enamel-Übergang
Dibenzoylperoxid	DBPO
Diurethandimethacrylat	HEMATMDI
E	Enamel/Enameloid
EDTA	Ethylendiamintetraessigsäure
Energiedispersive Röntgenspektroskopie	EDX
E_{red}	Reduzierter E-Modul
Ethylenglykoldimethacrylat	EGDMA
Fluorapatit	FAP
H	Härte
Hydroxylapatit	HAP
Infrarot	IR
Isobornylmethacrylat	IBOMA
Methacryloyloxyethylphosphat	HEMA-Phosphat
Methacrylsäure	GMAA
Methylmethacrylat	MMA
N-(2-Methacryloyloxyethyl)ethylen-	
Harnstoff	MEEU 25 M
Polymethylmethacrylat	PMMA
PVP	Polyvinylpyrrolidon

Rasterelektronenmikroskopie	REM
Röntgenpulverdiffraktometrie	XRD
<i>shiny layer</i>	sl
SR μ CT	Synchrotron-Mikro- computertomographie
Tetraethylorthosilicat	TEOS
Thermogravimetrie	TG
Transmissionselektronenmikroskopie	TEM
Trimethylolpropantrimethacrylat	TMPTMA
Ultraviolett	UV

8.2 Verzeichnis der wissenschaftlichen Veröffentlichungen

A) Reguläre Publikationen in referierten wissenschaftlichen Fachzeitschriften:

[A1] J. Enax, O. Prymak, D. Raabe, M. Epple, "Structure, composition, and mechanical properties of shark teeth", **Journal of Structural Biology** **178** (2012) 290-299.

[A2] J. Enax, H. Fabritius, A. Rack, O. Prymak, D. Raabe, M. Epple, "Characterization of crocodile teeth: Correlation of composition, microstructure, and hardness", **Journal of Structural Biology** **184** (2013) 155-163.

[A3] J. Enax, A. M. Janus, D. Raabe, M. Epple, H. Fabritius, "Ultrastructural organization and micromechanical properties of shark tooth enameloid", **Acta Biomaterialia** **10** (2014) 3959-3968.

B) Sonstige Publikationen, Kurzbeiträge, zitierfähige Konferenzabstracts:

[B1] J. Enax, O. Prymak, M. Epple, H. Fabritius, D. Raabe, "Strukturhierarchie, chemische Zusammensetzung und mechanische Eigenschaften von Haifischzähnen", **BioNanoMaterials** **13** (2012) 57.

[B2] J. Enax, H. Fabritius, O. Prymak, D. Raabe, M. Epple, "Synthetische Fluorapatit/Polymer-Dentalkomposite, basierend auf dem Vorbild Haizahn-Enameloid", **BioNanoMaterials** **14** (2013) 136.

C) Wissenschaftliche Vorträge (V=Vortrag, P=Poster):

[C1] 20. Jahrestagung der Deutschen Gesellschaft für Kristallographie (DGK), München, 12.-15.03.2012, O. Prymak, J. Enax, D. Raabe, M. Epple, "Crystallographic, structural and mechanical properties of shark teeth" (V)

[C2] Euro Bio-inspired Materials 2012, Golm, 20.-23.03.2012, J. Enax, O. Prymak, M. Epple, D. Raabe, "Structure and composition of shark teeth" (V+P)

[C3] Workshop "Biocompatible Coatings", Essen, 13.-14.09.2012, J. Enax, O. Prymak, H. Fabritius, D. Raabe, "Shark teeth: Relating hierarchical structure, composition, and the resulting mechanical properties for bio-inspiration" (V)

[C4] Symposium "Generation of Inorganic Functional Materials – Implementation of Biomineralization Principles", Ringberg, 30.09.-03.10.2012, M. Epple, J. Enax, O. Prymak, H. Fabritius, D. Raabe, "Shark teeth: Relating hierarchical structure and excellent mechanical properties for bio-inspiration" (V+P, eingeladen)

[C5] Jahrestagung der Deutschen Gesellschaft für Biomaterialien, Hamburg, 01.-03.11.2012, J. Enax, O. Prymak, M. Epple, H. Fabritius, D. Raabe, "Strukturhierarchie, chemische Zusammensetzung und mechanische Eigenschaften von Haifischzähnen" (V)

[C6] MRS Fall Meeting, Boston, USA, 25.-30.11.2012, J. Enax, O. Prymak, M. Epple, H. Fabritius, D. Raabe, "Shark teeth as high-performance tissue: Relating hierarchical structure and excellent mechanical properties for bio-inspiration" (V)

[C7] Russian-German Workshop "Biocompatible Materials and Coatings: Fundamental Problems & Trends, Biomedical Applications" (BMC-2013), Tomsk, Russland, 24.-27.02.2013, J. Enax, H. Fabritius, O. Prymak, D. Raabe, M. Eppe, "Tooth restoration materials based on fluoroapatite" (V)

[C8] 9th Zsigmondy Colloquium der Kolloidgeellschaft, Essen, 06.-08.03.2013, J. Enax, O. Prymak, H. Fabritius, D. Raabe, M. Eppe, "New approaches towards synthetic bio-inspired dental materials based on the characteristics of shark teeth" (V)

[C9] 12th International Symposium on Biomineralization (Biomin 12), 27.-30.08.2013, Freiberg/Sachsen, J. Enax, H. Fabritius, O. Prymak, D. Raabe, M. Eppe, "Synthetic dental fluoroapatite/polymer-composite materials inspired by the hierarchical organization of shark tooth enameloid" (V)

[C10] 12th International Symposium on Biomineralization (Biomin 12), 27.-30.08.2013, Freiberg/Sachsen, J. Enax, H. Fabritius, A. Rack, O. Prymak, D. Raabe, M. Eppe, "The structure and composition of crocodile teeth" (V)

[C11] Jahrestagung der Deutschen Gesellschaft für Biomaterialien, Erlangen, 26.-28.09.2013, J. Enax, H. Fabritius, O. Prymak, D. Raabe, M. Eppe, "Synthetische Fluorapatit/Polymer-Dentalkomposite, basierend auf dem Vorbild Haizahn-Enameloid" (P)

[C12] Annual meeting of the Polish Society for Biomaterials, Rytro, Polen, 10.-13.10.2013, O. Prymak, J. Enax, H. Fabritius, D. Raabe, M. Eppe, "Correlation of composition and structure of shark teeth" (V, eingeladen)

[C13] MRS Fall Meeting, Boston, USA, 01.-06.12.2013, J. Enax, H. Fabritius, A. Rack, O. Prymak, D. Raabe, M. Epple, "Crocodile teeth: Structure, chemical composition, and micromechanics" (**P**)

[C14] MRS Fall Meeting, Boston, USA, 01.-06.12.2013, J. Enax, H. Fabritius, O. Prymak, D. Raabe, M. Epple, "Synthetic dental composite materials inspired by the hierarchical organization of shark tooth enameloid" (**V**)

[C15] MRS Fall Meeting, Boston, USA, 01.-06.12.2013, J. Enax, H. Fabritius, O. Prymak, D. Raabe, M. Epple, "Structure-property relations and fracture behavior of shark tooth enameloid" (**V**)

[C16] Euro Bio-inspired Materials 2014, Potsdam, 18.-21.03.2014, J. Enax, H. Fabritius, O. Prymak, D. Raabe, M. Epple, "Fossilized shark teeth versus their recent counterparts: An in-depth comparison" (**V+P**)

[C17] 31st Canadian Biomaterials Society Annual Meeting, Halifax, Kanada, 04.-07.06.2014, J. Enax, H. Fabritius, O. Prymak, D. Raabe, M. Epple, "Synthetic dental composite materials inspired by shark teeth" (**V**)

[C18] Jahrestagung der Deutschen Gesellschaft für Biomaterialien, Dresden, 06.-08.11.2014, A. Dell, J. Enax, H. Fabritius, O. Prymak, D. Raabe, M. Epple, "Struktur und Zusammensetzung von fossilen Haifischzähnen" (**P**)

8.3 Lebenslauf

Diese Version enthält aus Gründen des Datenschutzes keinen Lebenslauf.

Diese Version enthält aus Gründen des Datenschutzes keinen Lebenslauf.

8.4 Erklärung

Hiermit versichere ich, dass ich die vorliegende Arbeit mit dem Titel

"Entwicklung zahnmedizinischer Materialien: Auf der Mikroarchitektur von Haifischzähnen basierende Fluorapatit/Polymer-Dentalkomposite und Mattierungsdispersionen für die Vermessung von Zähnen"

selbst verfasst und keine außer den angegebenen Hilfsmitteln und Quellen benutzt habe, und dass die Arbeit in dieser oder ähnlicher Form noch bei keiner anderen Universität eingereicht wurde.

Essen, 16. September 2014

8.5 Danksagung

Für die Unterstützung bei der Durchführung dieser Arbeit danke ich ausdrücklich allen Beteiligten.

Herrn Professor Epple danke ich für die Überlassung dieses sehr interessanten Promotionsthemas zur selbständigen Bearbeitung sowie für die stets gute Betreuung der Arbeit und die hilfreichen Diskussionen. Überdies bedanke ich mich, dass ich an vielen internationalen Konferenzen teilnehmen konnte, bei denen ich meine Forschungsergebnisse präsentieren konnte.

Herrn Professor Ulbricht danke ich für die Übernahme des Zweitgutachtens.

Herrn Professor Raabe und Herrn Dr. Fabritius vom Max-Planck-Institut für Eisenforschung in Düsseldorf danke ich für die Unterstützung dieser Arbeit im Rahmen des Schwerpunktprogramms 1420 der Deutschen Forschungsgemeinschaft. Herrn Dr. Fabritius danke ich für die Durchführung der mechanischen Analysen und die hochauflösenden rasterelektronenmikroskopischen Analysen der Haifisch- und Krokodilzähne sowie für viele hilfreiche Diskussionen.

Darüber hinaus danke ich Frau Bögershausen und Herrn Faul.

Herrn Dr. Prymak danke ich für die Aufnahme und Auswertung der Röntgenpulverdiffraktogramme sowie für viele fachliche Diskussionen.

Für die Bereitstellung der Monomer-Muster und die fachliche Beratung danke ich den Herren Dr. May, Dr. Schmitt, Dr. Schütz und Dr. Schenderlein von Evonik Industries, Darmstadt. Besonders hilfreich waren die vielen interessanten Diskussionen mit Herrn Dr. May bezüglich der Monomere und deren spezifischen Anwendungen.

Den folgenden weiteren Mitarbeitern von Evonik Industries möchte ich danken, die mich in der Promotionszeit unterstützt haben: Den Herren Dr. Hess (Advanced Intermediates, Marl), Dr. Baumann (High Performance Polymers, Marl), Dr. Venzmer (Evonik Goldschmidt, Essen), Frau Pospischil (Evonik Perspectives, Hanau) und Frau Dr.-Ing. Heesel (Creavis Project House Composites, Darmstadt).

Frau Fischer danke ich für die Unterstützung bei der Präparation der Zähne für die Analysen.

Herrn Dr. Rack, ESRF Grenoble, danke ich für die CT-Messung an Krokodilzähnen. Herrn Dr. Zaslansky, Charité - Universitätsmedizin Berlin, danke ich für die CT-Messung an Haifischzähnen.

Herrn Dr. Gillis, Dalhousie University, Kanada, danke ich für seine Hilfe bei der taxonomischen Bestimmung der Haifischzähne und für viele hilfreiche Diskussionen.

Für die REM-Aufnahmen danke ich Frau Giebel, Frau Loza und Herrn Boukercha sowie für die TEM-Aufnahmen Herrn Dr. Meyer-Zaika.

Für die elementaranalytischen Analysen danke ich Frau Hiltenkamp und Frau Brauner.

Frau Kistella, Pergan GmbH in Bocholt, danke ich für die Restmonomerbestimmung an PMMA-Homopolymeren.

Für die gute Zusammenarbeit im Rahmen des ZIM-Projekts zur Entwicklung einer Mattierungsdispersion danke ich den Herren Huber (Dentaco, Essen),

Professor Gängler und Dr. Lang (Ormed, Witten), Dr. Deppe und Dr. Bruder (Aerochemica, Kempen) und Kleemann (Zahnarztpraxis Kleemann, Dinslaken).
Frau M.Sc. Chernousova danke ich für die Durchführung der biologischen Untersuchungen.

Frau Göhlich, Naturhistorisches Museum Wien, danke ich für das Bereitstellen der Zahnproben von *C. megalodon*.

Den Herren Dr. Wachtler und Herbertz, Lanxess Leverkusen, danke ich für die Bereitstellung der Konservierungsmittel Preventol D2 und Preventol CMK PG.

Für die experimentelle Unterstützung danke ich den studentischen Hilfskräften Frau Yilmaz und Frau Wey sowie den Auszubildenden Frau Wenzel und Herrn Unterschermann.

Meinen Eltern und meiner Familie danke ich für die Unterstützung.